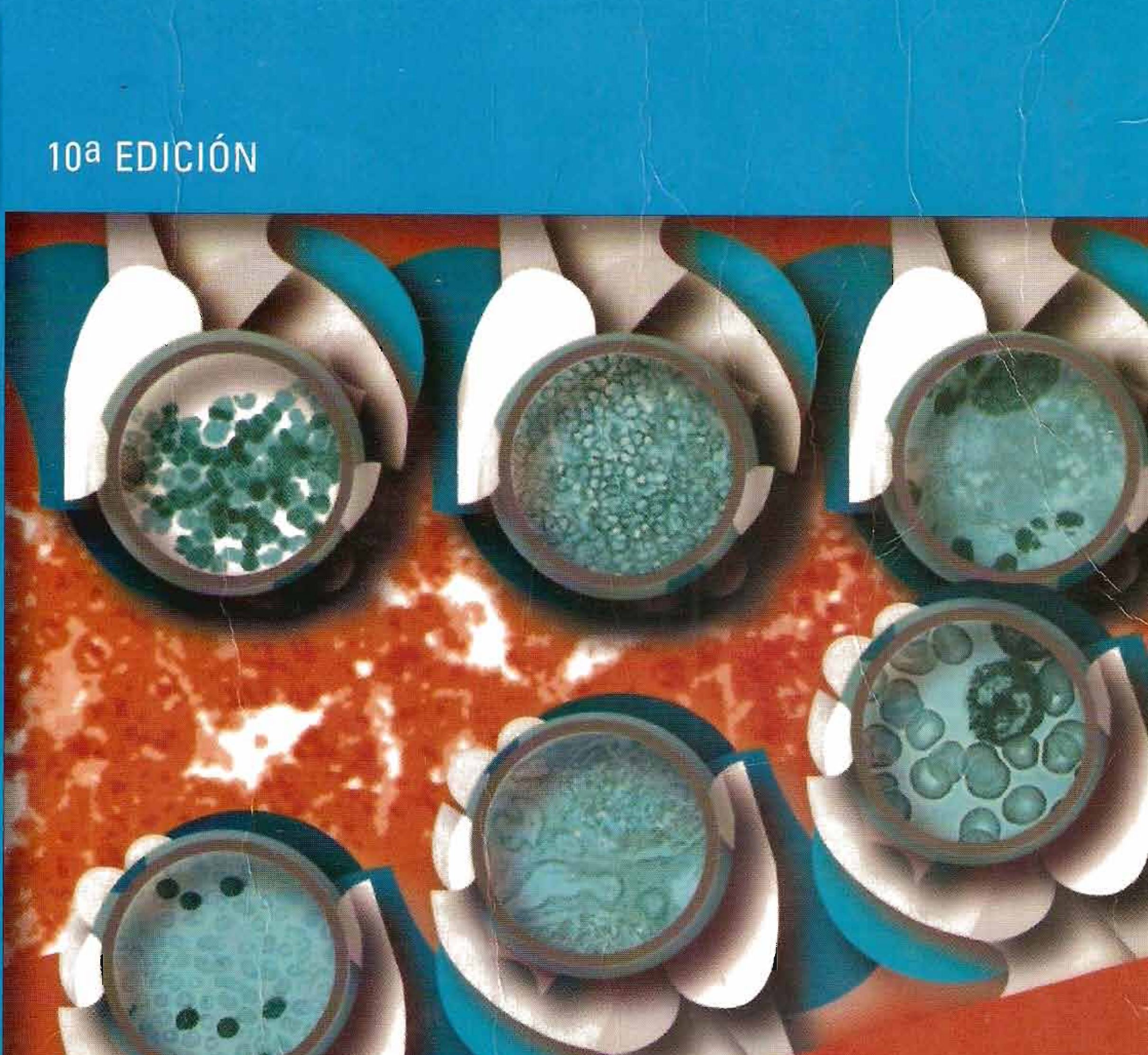
Roitt

www.el12cirujano.blogspot.com/

Inmunología

Fundamentos

10ª EDICIÓN



EDITORIAL MEDICA
panamericana

VISIT…

LANZAROTE
Caliente.com

Índice

www.el12cirujano.blogspot.com/

Agradecimientos vi

Prefacio vii

Abreviaturas ix

Guía para el lector xiii

Inmunidad innata 1

Inmunidad adquirida específica 23

Anticuerpos 41

Receptores de membrana para el antígeno 65

Interacción primaria con el antígeno 89

Técnicas inmunoquímicas 119

Técnicas celulares 143

La anatomía de la respuesta inmune 163

Activación de los linfocitos 183

La producción de efectores 199

Mecanismos de control 225

12 Ontogenia y filogenia 249

13 Estrategias de los adversarios durante la infección 281

14 Profilaxis 319

15 Inmunodeficiencia 347

16 Hipersensibilidad 367

17 Trasplante 399

18 Inmunología tumoral 427

19 Enfermedades autoinmunes
1. Alcance y etiología 453

20 Enfermedades autoinmunes
2. Patogenia, diagnóstico y tratamiento 483

Apéndice 1: Marcadores CD 517

Apéndice 2: Glosario 533

Índice analítico 543

www.labibliotecamedica.org
"Donde se prestan los libros siempre"

Abreviaturas

www.el12cirujano.blogspot.com/

Ac	anticuerpo(s)
ACh-R	receptor de acetilcolina
ACTH	hormona adrenocorticotrófica
ADA	adenosindesaminasa
(A/E)	moléculas del CMH murino
Ag	antígeno
al	alto
ANCA	anticuerpos anticitoplasma de neutrófilos (antineutrophil cytoplasmic antibodies)
AR	artritis reumatoidea
ARRE-1	elemento de respuesta de receptor para antígeno 1 (antigen receptor response element-1)
ARRE-2	elemento de respuesta de receptor para antígeno-2 (antigen receptor response element-2)
ASB	albúmina sérica bovina
AZT	zidovudina (3'-azido-3'desoxitimidina)
ba	bajo
BCG	forma atenuada del bacilo de la tuberculosis; bacilo de Calmette-Guérin
BCR	receptor de células B (B-cell receptor)
BT	bacilo de la tuberculosis
BUDR	bromodesoxiuridina
C	complemento
Cα(β/γ/δ)	parte constante de la cadena α(β/γ/δ) del TCR
cadena J	cadena peptídica en dímero de IgA e IgM
CALLA	antígeno común de leucemia linfoblástica aguda (common acute lymphoblastic leukemia antigen)
cAMP	adenosin monofosfato cíclico
CCDA	citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo
CCP	proteína de control del complemento (complement control protein repeat)
CD	cúmulo de diferenciación (cluster of differentiation)
CDR	regiones determinantes de la complementariedad de las porciones variables de las Ig o los TCR (complementarity determining regions)
CEA	antígeno carcinoembrionario (carcinoembryonic antigen)
Célula B	linfocito que madura en la médula ósea
Célula T	linfocito derivado del timo
CFA	coadyuvante completo de Freund (complete Freund's adjuvant)
cGMP	guanosin monofosfato cíclico
CGS	cromoglicato de sodio
$C_{H(L)}$	parte constante de la cadena pesada (liviana) de Ig
CMH	complejo mayor de histocompatibilidad
CMV	citomegalovirus
Cn	componente n del complemento
$C\bar{n}$	componente n activado del complemento
Cna	péptido pequeño derivado de la activación proteolítica de Cn
CO	pollo de cepas obesa
CPA	célula presentadora de antígeno
CpG	citosina-guanina
CR(n)	receptor "n" del complemento (complement receptor 'n')
CRP	proteína C reactiva (C-reactive protein)
CsA	ciclosporina A
CVRT	cantidades variables de repeticiones en tándem
DAF	factor acelerador de la degradación (decay accelerating factor)
DAG	diacilglicerol
DC	células dendríticas (dendritic cells)
DMID	diabetes mellitus insulinodependiente
DNO	ratón diabético no obeso
DNP	dinitrofenol
DO	densidad óptica
(DP/DQ/DR)	moléculas de CMH humano
DTP	vacuna triple contra difteria, tétanos, pertussis
Eφ	eosinófilo
EAE	encefalitis alérgica experimental
EAV	endotelio alto de vénula poscapilar
EBV	virus de Epstein-Barr
ELISA	ensayo inmunosorbente ligado a enzimas (enzyme-linked immunosorbent assay)
EM	esclerosis múltiple
ES	(célula) madre embrionaria (embryonic stem [cell])
$F(ab)'_2$	fragmento divalente fijador de antígeno, tras la digestión con pepsina
F(B)	factor (B, etc.)
Fab	fragmento de Ig monovalente fijador de antígeno (antigen-binding), tras la digestión con papaína

FACS	clasificador celular activado por fluorescencia (fluorescence-activated cell sorter)
Fc	en principio, fragmento de Ig cristalizable; hoy parte no Fab de una Ig
FcγR	receptor para el fragmento Fc de IgG
FDC	células dendríticas foliculares (follicular dendritic cells)
FR	factor reumatoideo
G	granulocito
gen *J*	gen de unión que vincula un segmento V o D con la región constante
gen *V*	gen de la región variable para inmunoglobulina o receptor de célula T
gen *D*	minigén de diversidad que une los segmentos V y J para formar la región variable
GM-CSF	factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor)
gp*n*	glucoproteína *n*kDa
H-2	complejo mayor de histocompatibilidad del ratón
H-2D/K/L	loci principales de clase I (clase II) clásica
HAMA	anticuerpos humanos antirratón (human antimouse antibodies)
HBsAg	antígeno de superficie de la hepatitis B (hepatitis B surface antigen)
hCG	gonadotrofina coriónica humana (human chorionic gonadotropin)
HIV-1(2)	virus de la inmunodeficiencia humana 1(2) (human immunodeficiency virus)
HLA	complejo mayor de histocompatibilidad humano
HLA-A/B/C	loci principales de clase I (clase II) clásica
HPN	hemoglobinuria paroxística nocturna
HRF	factor de restricción homóloga (homologous restriction factor)
HSA	antígeno termoestable (heat-stable antigen)
hsp	proteína del choque térmico (heat shock protein)
5HT	5-hidroxitriptamina
HTLV	virus de la leucemia de células T humana (human T-cell leukemia virus)
H-Y	antígeno de trasplante masculino
i.v.h.	injerto versus huésped
ICAM-1	molécula de adhesión intercelular 1 (intercellular adhesion molecule-1)
iCn	componente n inactivado del complemento
Id(αId)	idiotipo (antiidiotipo)
IDC	células dendríticas interdigitantes (interdigitating dendritic cells)
IDRS	inmunodifusión radial simple
IDSC	inmunodeficiencia combinada grave
IFNα	interferón-α (también IFNβ, IFNγ)
Ig	inmunoglobulina
IgG	inmunoglobulina G (también IgM, IgA, IgD, IgE)
IgM-α/Ig-β	cadenas peptídicas de membrana asociadas con receptor para sIgM de las células B
IgSF	superfamilia de inmunoglobulinas
IL-1	interleucina-1 (también IL-2, IL-3, etc.)
ILT	irradiación linfática total
IMC	inmunidad mediada por células
iNOS	sintetasa de óxido nítrico inducible (inducible nitric oxide synthase)
IP_3	trifosfato de inositol
IRO	intermediarios reactivos de oxígeno
ISCOM	complejo inmunoestimulante (immunostimulating complex)
ITAM	motivo de activación de inmunorreceptores basado en tirosina (immunoreceptor tyrosine-based activation motif)
ITIM	motivo de inhibición de inmunorreceptores basado en tirosina (immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif)
JAK	cinasas Janos (Janus kinases)
Ka(d)	constante de afinidad de asociación (disociación) (por lo general en reacciones Ag-Ac)
kDa	unidad de masa molecular en kilodalton
KLH	hemocianina de lapa en cerradura (keyhole limpet hemocyanin)
LAK	célula killer activada por linfocitos (lymphocyte activated killer cell)
LATS	estimulador tiroideo de acción prolongada (long-acting thyroid stimulator)
LBP	proteína fijadora de LPS (LPS binding protein)
LCM	virus de la coriomeningitis linfocitaria (lymphocytic choriomeningitis virus)
LCR	líquido cefalorraquídeo
$Le^{a/b/x}$	antígenos de grupo sanguíneo Lewis $^{a/b/x}$
LES	lupus eritematoso sistémico
LFA-1	antígeno funcional linfocitario 1 (lymphocyte functional antigen-1)
LGG	linfocito granular grande
LHRH	hormona liberadora de hormona luteinizante (luteinizing hormone releasing hormone)
LIF	factor inhibidor de leucemia (leukemia inhibiting factor)
LLA-T	leucemia linfoblástica aguda T
LMC	linfólisis mediada por células
LPS	lipopolisacárido (endotoxina)
LT(B)	leucotrieno (B, etc.)
LX	ligado a (cromosoma) X
Mϕ	macrófago
m.b.g.	membrana basal glomerular
MAC	complejo de ataque a la membrana (membrane attack complex)
mAc	anticuerpo monoclonal
MAdCAM	molécula de adhesión celular de adresina de la mucosa (mucosal addressin cell adhesion molecule)

MALT	tejido linfoide asociado con mucosas (mucosal-associated lymphoid tissue)
MAP cinasa	proteína cinasa activada por mitógenos (mitogen-activated protein kinase)
MBP	proteína básica de mielina (o proteína básica de eosinófilos) (myelin basic protein)
MC	mastocitos (mast cell)
MCP	proteína cofactor de membrana (regulación de C′) (membrane cofactor protein [C′ regulation])
MCP-1	proteína quimiotáctica de monocitos 1 (monocyte chemotactic protein-1)
M-CSF	factor estimulante de colonias de macrófagos (macrophage colony-stimulating factor)
MDP	muramildipéptido
ME	microscopio electrónico
MIF	factor inhibidor de migración de macrófagos (macrophage migration inhibitory factor)
MLA	monofosforil lípido A
MMTV	virus de tumor mamario murino (mouse mammary tumor virus)
MO	médula ósea
MSH	hormona estimulante de melanocitos (melanocyte stimulating hormone)
MuLV	virus de leucemia murina (murine leukemia virus)
NADP	nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
NAP	péptido activador de neutrófilos (neutrophil activating peptide)
NBT	nitro azul tetrazolio (nitro blue tetrazolium)
NCF	factor quimiotáctico de neutrófilos (neutrophil chemotactic factor)·
NFAT	factor nuclear de células T activadas (nuclear factor of activated T-cells)
NFκB-	factor nuclear de transcripción (nuclear transcription factor)
NK	células natural killer (natural killer cells)
NO·	óxido nítrico
NZB	ratón negro de Nueva Zelanda (New Zealand Black mouse)
NZB×W	ratón negro de Nueva Zelanda × híbrido NZ blanco (New Zealand Black mouse × NZ White F1 hybrid)
$\cdot O_2^-$	anión superóxido
ORF	marco de lectura abierto (open reading frame)
Ova	ovoalbúmina
PAF(-R)	factor activador de plaquetas (-receptor) (platelet activating factor [-receptor])
PCA	anafilaxia cutánea pasiva (passive cutaneous anaphylaxis)
PCR	reacción en cadena de la polimerasa (polymerase chain reaction)
PG(E)	prostaglandina (E, etc.)
PHA	fitohemaglutinina (phytohemagglutinin)
phox	fagocitooxidasa (phagocyte oxidase)
PIP$_2$	difosfato de fosfatidilinositol
PIV	péptido intestinal vasoactivo
PKC	proteína cinasa C (protein kinase C)
PLC	fosfolipasa C (phospholipase C)
PMN	neutrófilo polimorfonuclear
PPD	derivado proteico purificado de *Mycobacterium tuberculosis* (purified protein derivative)
PTI	púrpura trombocitopénica idiopática
PTK	proteína tirosina cinasa (protein tyrosine kinase)
PWM	mitógeno de fitolaca (pokeweed mitogen)
RANTES	quimiocina expresada y secretada por células T normales reguladas por la activación (*r*egulated upon *a*ctivation *n*ormal T-cell *e*xpresssed and secreted chemokine)
RAST	prueba de radioalergosorbente (radioallergosorbent test)
RE	retículo endoplasmático
Rh(D)	grupo sanguíneo rhesus (D)
RLM	reacción linfocitaria mixta
SAP	amiloide P sérico (serum amyloid P)
SC	componente secretor de Ig (Ig secretory component)
SCF	factor de células madre (stem cell factor)
scFv	fragmento de anticuerpo de región variable monocatenario (V_H + V_L vinculado mediante un ligador flexible) (single chain variable region antibody fragment)
(sc)Fv	fragmento H_H-V_L (monocatenario) de fijación del antígeno ([single chain] V_H-V_L antigen binding fragment)
SDS-PAGE	electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato de sodio (sodium dodecylsulfate-polyacrylamide gel electrophoresis)
SEA(B, etc.)	enterotoxina de *S. aureus* A (B, etc.) *Staphylococcus aureus* enterotoxin A (B, etc.)
SIDA	síndrome de inmunodeficiencia adquirida (sida)
sIg	inmunoglobulina de superficie
SIV	virus de la inmunodeficiencia simiana (simian immunodeficiency virus)
STAT	transductor de señales y activador de transcripción (signal transducer and activator of transcription)
LLA-T	leucemia linfoblástica aguda T
TAP	transportador para el procesamiento del antígeno (transporter for antigen processing)
Tc	célula T citotóxica
TCR1(2)	receptor de célula T con cadenas γ/δ (α/β) (T-cell receptor)
TdT	desoxinucleotidiltransferasa terminal (terminal deoxynucleotidyl transferase)
TFM	tubo fotomultiplicador

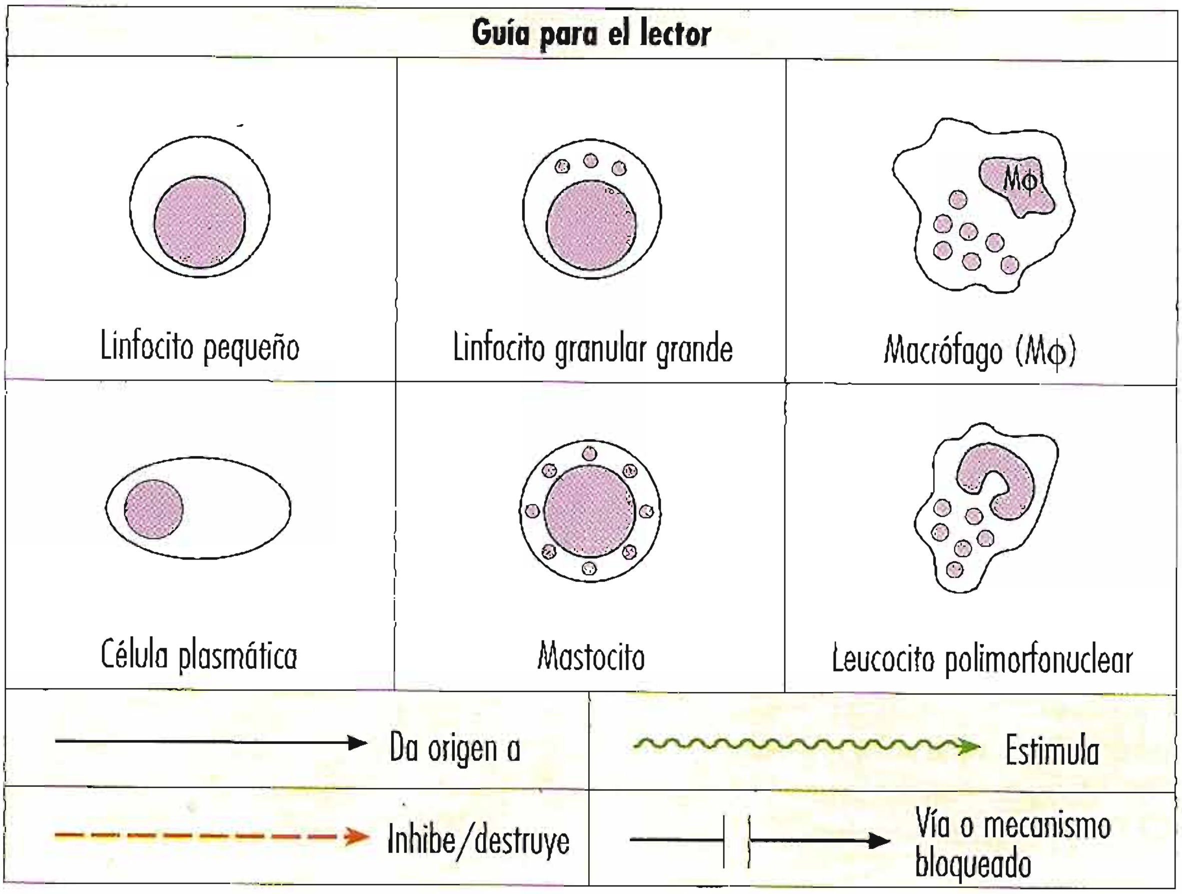
ABREVIATURAS

G-A-L	polilisina con cadenas laterales de polialanina rematadas al azar con tirosina y ácido glutámico
GFβ	factor de crecimiento transformador β (transforming growth factor-β)
h(1/2)	célula T helper (subtipo 1 o 2)
hp	precursor de célula T (T-helper precursor)
M	transmembrana
NF	factor de necrosis tumoral
NP	trinitrofenol
s	célula T supresora
SAb	anticuerpos estimuladores de la glándula tiroides (thyroid stimulating antibodies)
TSH(R)	hormona estimuladora de la glándula tiroides (receptor) (thyroid stimulating hormone [receptor])
tum-	tumores mutantes muy inmunógenos
Vα(β/γ/δ)	parte variable de la cadena α(β/γ/δ) del TCR
$V_{\kappa/\lambda}$	parte variable de cadena liviana κ(λ)
VCAM	molécula de adhesión celular vascular (vascular cell adhesion molecule)
V_H	parte variable de cadena pesada de Ig
V_L	parte variable de cadena liviana
VLA	antígenos muy tardíos (very late antigens
VP1	péptido específico viral 1 (virus-specific peptide 1)

Guía para el lector

www.el12cirujano.blogspot.com/

En todas las ilustraciones se han utilizado iconos estándar para las células y los mecanismos más comunes. A continuación se muestra su significación.


Guía para el lector
Linfocito pequeño
Linfocito granular grande
Mφ
Macrófago (Mφ)
Célula plasmática
Mastocito
Leucocito polimorfonuclear
Da origen a
Estimula
Inhibe/destruye
Vía o mecanismo bloqueado

CAPÍTULO 1

Inmunidad innata

www.el12cirujano.blogspot.com/

Introducción, 1
Barreras externas contra infecciones, 1
Las células fagocíticas destruyen microorganismos, 2
  Los neutrófilos y los macrófagos son afanosos fagocitos "profesionales", 2
  Los receptores de reconocimiento de patrones (PRR) sobre las células fagocíticas reconocen patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP) y son activados por ellos, 4
  Los microbios son captados por células fagocíticas activadas, 6
  Existe un amplio espectro de mecanismos de eliminación, 6
El complemento facilita la fagocitosis, 10
  El complemento y su activación, 10
  El complemento posee una diversidad de funciones biológicas defensivas, 13
El complemento puede mediar una reacción inflamatoria aguda, 13
  El mastocito desempeña un papel central, 14
  Los macrófagos también pueden hacerlo, 14
Los mecanismos humorales proporcionan una segunda estrategia defensiva, 14
  Factores antimicrobianos en las secreciones, 14
  Las proteínas de fase aguda aumentan en respuesta a infecciones, 17
  Los interferones inhiben la replicación viral, 18
Muerte extracelular, 19
  Células natural killer (NK), 19
  Las células blanco reciben la orden de suicidarse, 19
  Eosinófilos, 20
Resumen, 20

INTRODUCCIÓN

Vivimos en un mundo potencialmente hostil, atestado por un conjunto confuso de agentes infecciosos (fig. 1-1) de diversas formas, tamaños, composición y caracteres agresivos. Con gusto ellos nos utilizarían como ricos santuarios para la propagación de sus "genes egoístas", si no hubiéramos desarrollado también un conjunto de mecanismos de defensa por lo menos tan eficaces e ingeniosos (salvo en el caso de muchas infestaciones parasitarias, en las cuales la situación se describe mejor como una tregua incómoda y a menudo insatisfactoria). Estos mecanismos de defensa pueden establecer un estado de inmunidad contra la infección (lat. *immunitas*, libre de), cuya operatoria es la base de la maravillosa asignatura denominada "Inmunología".

Además de los poco conocidos factores constitucionales que inducen susceptibilidad innata en una especie y tornan a otra resistente a ciertas infecciones, se han descubierto varios sistemas antimicrobianos relativamente inespecíficos (p.ej., fagocitosis) que son **innatos** en el sentido de que no son afectados en forma intrínseca por el contacto previo con el agente infeccioso. Analizaremos estos sistemas y cómo se observa un notable incremento de la efectividad en el estado de **inmunidad adquirida específica**.

BARRERAS EXTERNAS CONTRA INFECCIONES

La forma más simple de evitar las infecciones es impedir el acceso de los microorganismos al cuerpo de un individuo (fig. 1-2). Es obvio que la principal línea de defensa es la piel, que es impermeable a la mayoría de los agentes infecciosos cuando está intacta; si hay pérdida cutánea, por ejemplo en las quemaduras, la infección representa un problema importante. Además, la mayoría de las bacterias no sobrevive durante mucho tiempo sobre la piel, debido a los efectos inhibitorios directos del ácido láctico, los ácidos grasos del sudor y las secreciones sebáceas, y al bajo pH que crean. El *Staphylococcus aureus* constituye una excepción, pues a menudo infecta los folículos pilosos y las glándulas, relativamente vulnerables.

El moco secretado por las membranas que revisten las superficies internas del organismo actúa como una barrera protectora, que bloquea la adherencia de las bacterias a las células epiteliales. Las partículas microbianas y de otro tipo, extrañas al organismo y atrapadas en el moco adhesivo, son eliminadas mediante artimañas mecánicas, como el movimiento ciliar, la tos y el estornudo. Entre otros factores mecánicos que contribuyen a proteger las superficies epiteliales también se debe incluir la acción de lavado de las lágrimas, la saliva y la orina. Muchos de los líquidos orgánicos secretados contienen componentes bactericidas, como ácido en el jugo gástrico, espermina y cinc en el semen, lactope-

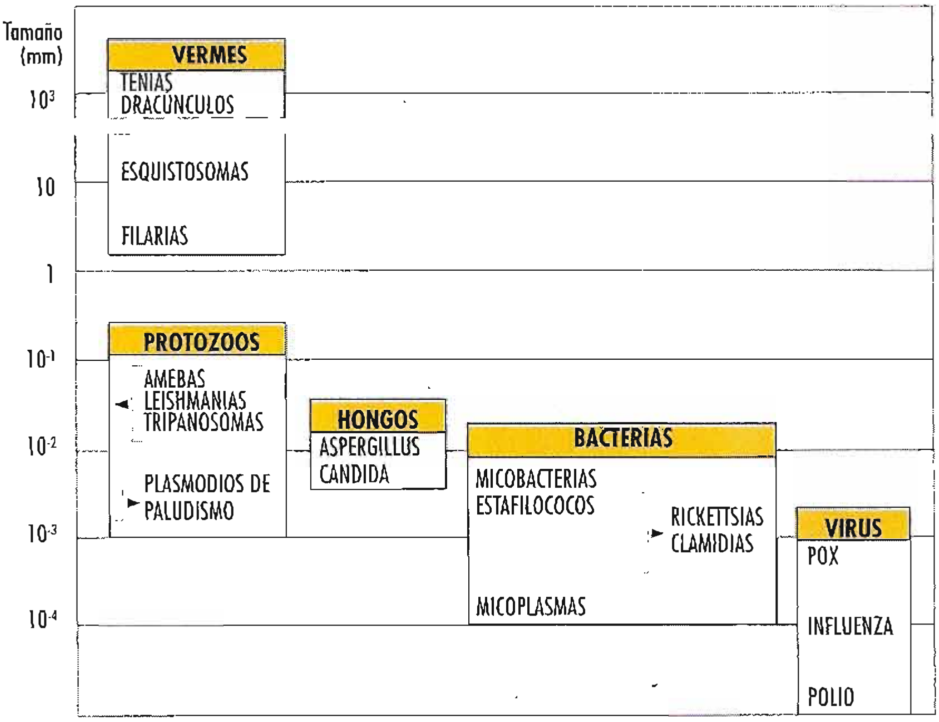


Fig. 1-1. El notable espectro de agentes infecciosos que debe enfrentar el sistema inmune. Si bien por lo general no se clasifican como tales, debido a su carencia de pared celular, por conveniencia entre las bacterias se incluyen los micoplasmas. Los hongos adoptan muchas formas y se dan los valores aproximados de algunas de las formas más pequeñas.]▶, variación de tamaños observados por los microorganismos indicados por la flecha; ◀[, los microorganismos mencionados tienen el tamaño indicado por la flecha.

roxidasa en la leche y lisozima en las lágrimas, las secreciones nasales y la saliva.

Un mecanismo totalmente diferente es el antagonismo microbiano asociado con la flora bacteriana normal del organismo, que suprime el crecimiento superficial de muchas bacterias y hongos con potencial patógeno al competir por los nutrientes esenciales o producir sustancias inhibitorias. Por ejemplo, la invasión de patógenos es limitada por el ácido láctico producido por determinadas especies de bacterias comensales, que metabolizan el glucógeno secretado por el epitelio vaginal. Cuando se alteran los comensales protectores, por la acción de antibióticos, aumenta la susceptibilidad a infecciones oportunistas por *Candida* y *Clostridium difficile*. Los comensales intestinales también pueden producir colicinas, una clase de bactericidinas que se unen a la superficie con carga negativa de las bacterias susceptibles e insertan una horquilla helicoidal hidrófoba en la membrana; la molécula entonces sufre una transformación de tipo "Dr. Jekyll y Mr Hyde", se torna hidrófoba por completo y forma en la membrana un canal regulado por voltaje, que elimina la célula al destruir su potencial energético. Incluso en este nivel la supervivencia es un juego difícil.

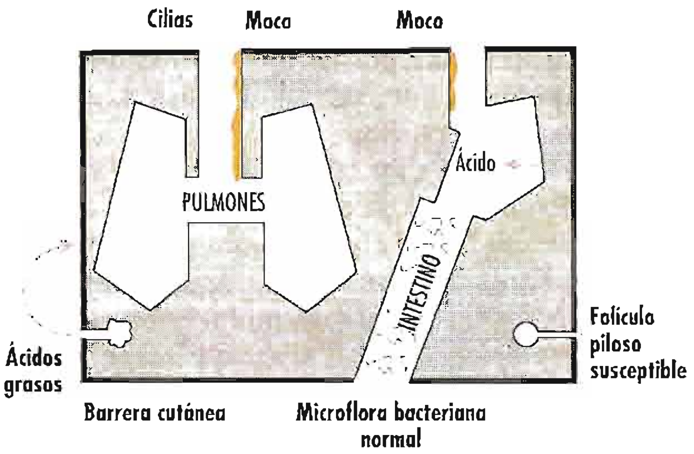


Fig. 1-2. Las primeras líneas de defensa contra infecciones: protección en las superficies corporales externas.

Si los microorganismos ingresan en el organismo, comienzan a actuar dos operaciones defensivas importantes: el efecto destructor de factores químicos solubles, como las enzimas bactericidas, y el mecanismo de **fagocitosis**, en sentido literal "comido" por la célula (hito 1-1).

LAS CÉLULAS FAGOCÍTICAS DESTRUYEN MICROORGANISMOS

Los neutrófilos y los macrófagos son afanosos fagocitos "profesionales"

La captación y la digestión de microorganismos son procesos asignados a dos tipos celulares principales, designados por Metchnikoff, a fines del siglo XIX, como micrófagos y macrófagos.

El neutrófilo polimorfonuclear

Esta célula, la más pequeña de las dos, comparte la célula madre hematopoyética precursora común con los demás elementos figurados de la sangre y es el

Hito 1-1. Fagocitosis

El destacado zoólogo ruso Elie Metchnikoff (1845-1916) descubrió que ciertas células especializadas median la defensa contra las infecciones microbianas, por lo que es el padre del concepto general de inmunidad celular. Lo intrigaban las células móviles de las larvas transparentes de estrella de mar y realizó la crítica observación de que pocas horas después de introducir en estas larvas una espina de rosa, ésta era rodeada por las células móviles. Un año después, en 1883, observó que las esporas de los hongos podían ser atacadas por las células sanguíneas de *Daphnia*, un pequeño metazoo transparente que se puede estudiar directamente con el microscopio. Metchnikoff extendió sus investigaciones a los leucocitos de mamíferos y demostró su capacidad de captar microorganismos, mediante un mecanismo que denominó **fagocitosis**.

Como descubrió que este proceso era aún más eficaz en los animales que se recuperaban de una infección, arribó a la conclusión algo polarizada de que la fagocitosis brindaba la principal defensa contra las infecciones, si no la única. Continuó con la definición de la existencia de dos tipos de fagocitos circulantes: el leucocito polimorfonuclear, que denominó "micrófago", y el "macrófago", de mayor tamaño.

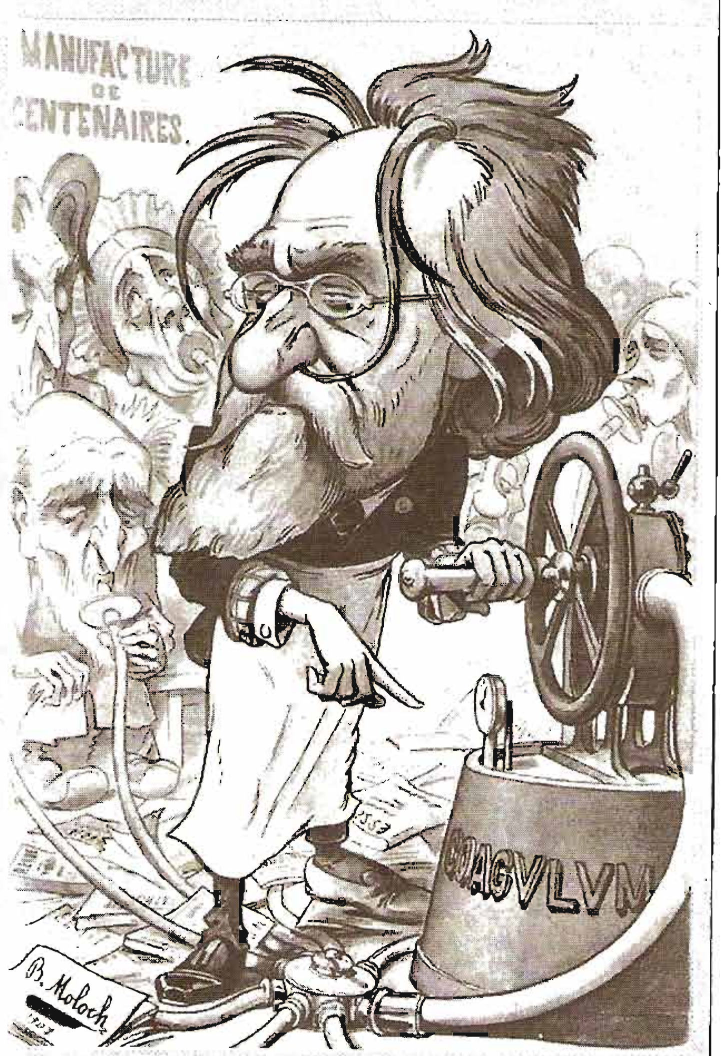


Fig. H1-1-1. Caricatura del Profesor Metchnikoff, aparecida en *Chanteclair*, 1908, N° 4, pág. 7. (Reproducción proporcionada por gentileza de The Wellcome Institute Library, London.)

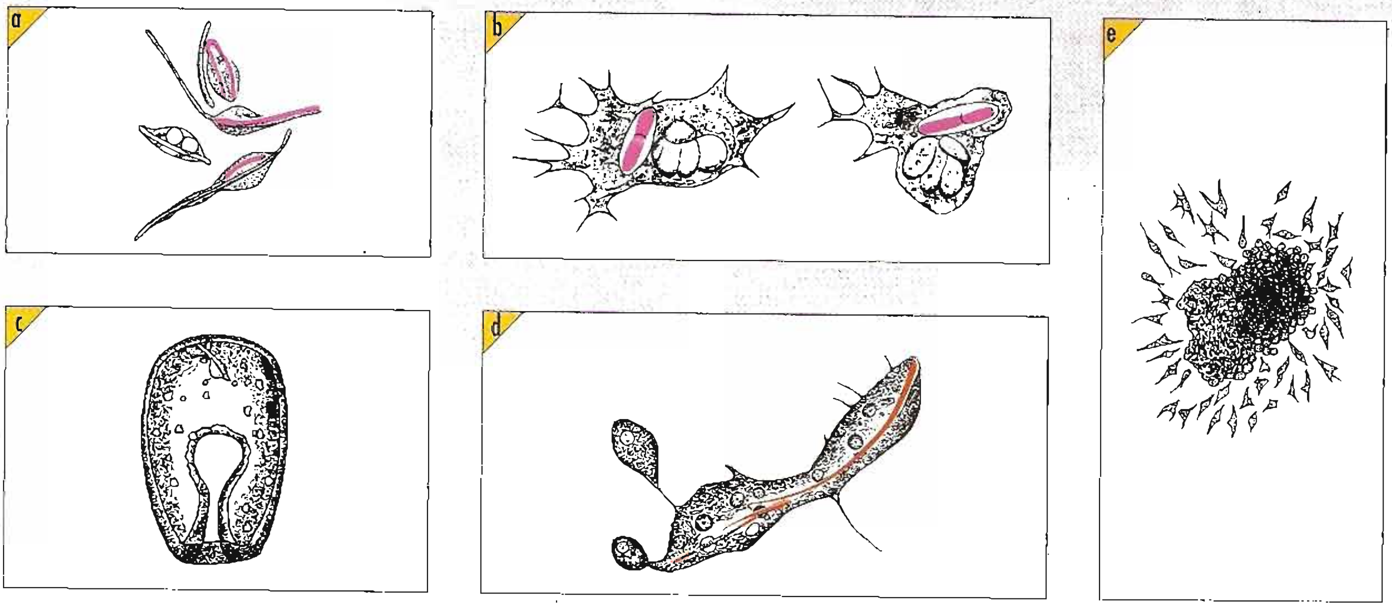
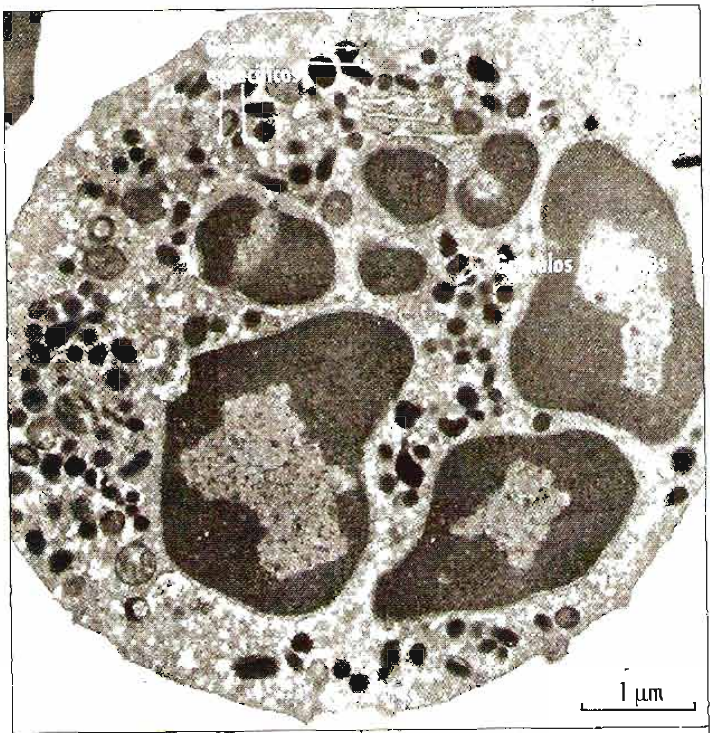


Fig. H1-1-2. Reproducciones de algunas de las ilustraciones del libro de Metchnikoff, *Comparative Pathology of Inflammation* (1893). a) Cuatro leucocitos de rana con bacilos de carbunco en su interior; algunos están vivos y aparecen sin teñir, mientras que otros están muertos, han captado el colorante vesuvina y se tiñeron; b) dibujo de un bacilo de carbunco, teñido con vesuvina, en un leucocito de rana; las dos figuras representan dos fases de movimiento del mismo leucocito de rana, que contiene bacilos de carbunco teñidos en la vacuola fagocítica; c) y d) cuerpo extraño (teñido) en una larva de estrella de mar rodeado por fagocitos fusionados para formar un plasmodio multinucleado, que se ve con mayor aumento en d); e) esta imagen permite apreciar la atracción dinámica de los fagocitos móviles del mesénquima hacia un intruso extraño dentro de una larva de estrella de mar.



GRÁNULOS AZURÓFILOS	GRÁNULOS ESPECÍFICOS
0,5 µm 1.500/célula	0,2 µm 3.000/célula
Lisozima Mieloperoxidasa Elastasa Catepsina G H⁺ hidrolasas	Lisozima Citocromo b_{558} OH fosfatasa Lactoferrina
Defensinas BPI	Proteína fijadora de vitamina B_{12}

Fig. 1-3. Microfotografía electrónica de un neutrófilo. Se distinguen bien el núcleo multilobulado y los dos tipos principales de gránulos citoplasmáticos. (Gentileza del doctor D. McLaren.)

glóbulo blanco dominante en el torrente sanguíneo. Es una célula de vida corta, que no se divide, con un núcleo multilobulado y numerosos gránulos que casi no se tiñen con colorantes histológicos, como hematoxilina-eosina, a diferencia de las estructuras del eosinófilo y el basófilo, estrechamente relacionados con el neutrófilo (figs. 1-3 y 1-4). Los gránulos neutrófilos pueden ser de dos tipos principales: i) el **gránulo primario azurófilo** se forma al inicio del desarrollo (fig. 1-4e), presenta la típica morfología lisosómica y contiene mieloperoxidasa y la mayoría de los efectores antimicrobianos no oxidativos, entre ellos defensinas, proteína bactericida estimuladora de la permeabilidad (BPI) y catepsina G (fig. 1-3), por último, ii) los **gránulos secundarios específicos** peroxidasa negativos que contienen lactoferrina, gran parte de la lisozima, fosfatasa alcalina (fig. 1-4d) y citocromo b_{558} unido a membrana (fig. 1-3). Los abundantes depósitos de glucógeno se utilizan en la glucólisis, lo que permite a las células actuar en condiciones de anaerobiosis.

El macrófago

Estas células derivan de promonocitos de la médula ósea que, tras diferenciarse como monocitos sanguíneos, se asientan en los tejidos como macrófagos maduros, y constituyen el **sistema fagocítico mononuclear** (fig. 1-5). Se encuentran en el tejido conectivo y alrededor de la membrana basal de los pequeños vasos sanguíneos, aparecen en mayor concentración en los pulmones (fig. 1-4h; macrófagos alveolares), el hígado (células de Kupffer), y el revestimiento de los sinusoides del bazo y los senos medulares de los ganglios linfáticos, donde se ubican en localizaciones estratégicas para filtrar el material extraño. Otros ejemplos son las células mesangiales del glomérulo renal, la microglia del encéfalo y los osteoclastos óseos. A diferencia de los polimorfonucleares, son células de vida prolongada, con cantidades significativas de retículo endoplasmático rugoso y mitocondrias (fig. 1-8b); mientras los polimorfonucleares son la principal defensa contra bacterias piógenas (formadoras de pus), como regla general se puede decir que los macrófagos están más preparados para combatir las bacterias (fig. 1-4g), los virus y los protozoos capaces de vivir dentro de las células del huésped.

Los receptores de reconocimiento de patrones (PRR) sobre las células fagocíticas reconocen patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP) y son activados por ellos

Es casi innecesario aclarar que el organismo provee un medio interno muy complejo y que los fagocitos se enfrentan constantemente con una extraordinaria variedad de diferentes células y moléculas solubles. Deben contar con mecanismos que les permitan distinguir estos componentes propios inocuos de los agentes microbianos lesivos y potencialmente peligrosos, y, como lo define en forma tan adecuada Charlie Janeway, deben ser capaces de discriminar entre "lo propio no infeccioso y lo no propio infeccioso". No sólo se deben reconocer las infecciones, sino también es necesario generar una señal que indique "peligro" (Polly Matzinger).

En interés de la supervivencia las células fagocíticas han desarrollado un sistema de receptores capaces de reconocer patrones moleculares expresados sobre la superficie de los patógenos (PAMP) que se conservan (rara vez presentan mutaciones), son compartidos por un gran grupo de agentes infecciosos (lo que evita la necesidad de demasiados receptores) y se distinguen con claridad de los patrones propios.

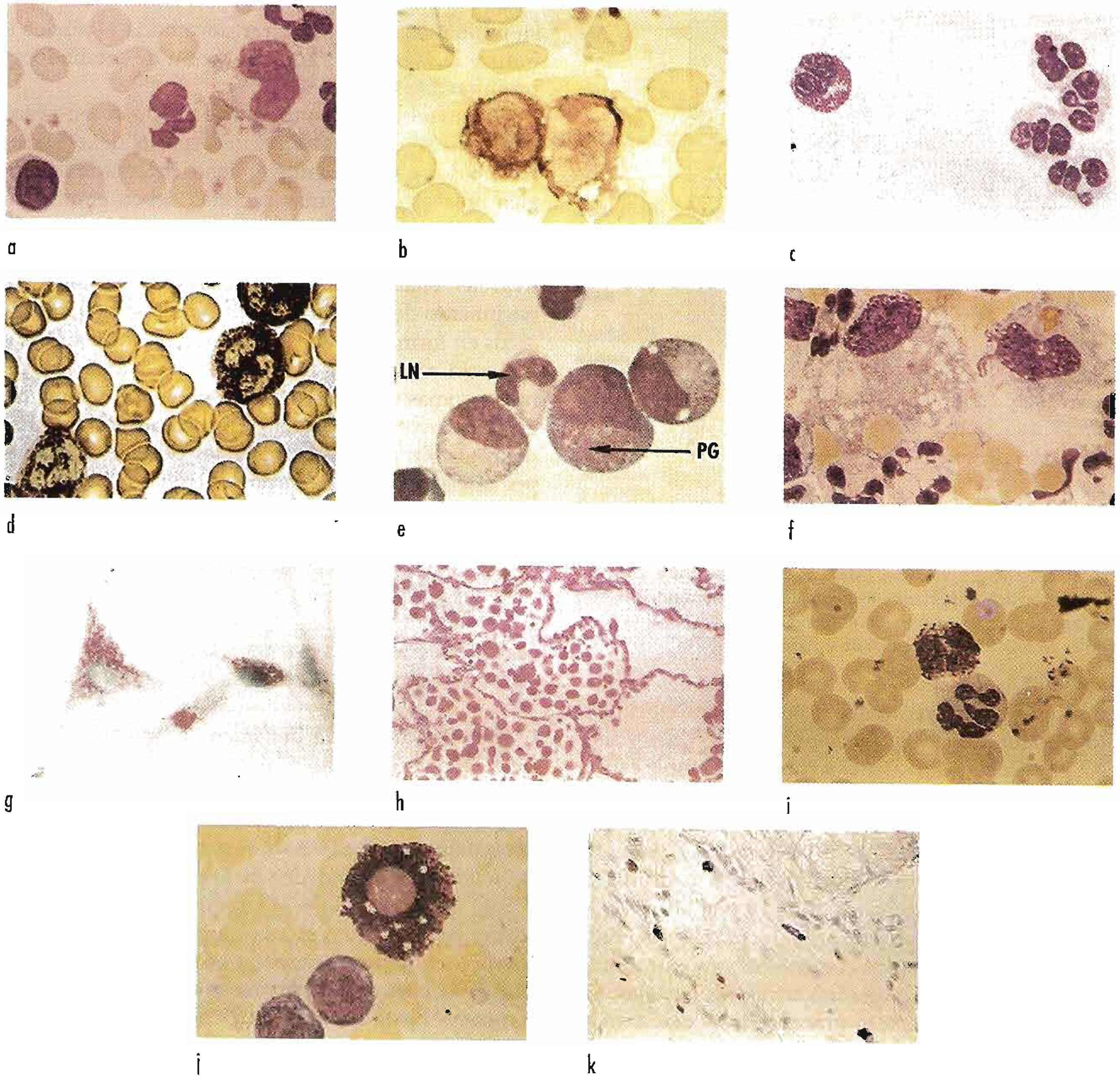


Fig. 1-4. Células que intervienen en la inmunidad innata. a) Monocito que muestra el núcleo en herradura y el citoplasma pálido, bastante abundante. Nótense los tres neutrófilos polimorfonucleares multilobulados y el linfocito pequeño (ángulo inferior izquierdo). Tinción de Romanowsky. **b)** Dos monocitos teñidos para esterasa no específica mediante α-naftil acetato. Nótese el citoplasma vacuolado. La pequeña célula con tinción focal, en la parte superior, es un linfocito T. **c)** Cuatro leucocitos polimorfonucleares (neutrófilos) y un eosinófilo. Se muestran con claridad los núcleos multilobulados y los gránulos citoplasmáticos; los del eosinófilo están muy teñidos. **d)** Neutrófilo polimorfonuclear con gránulos citoplasmáticos teñidos para fosfatasa alcalina. **e)** Neutrófilos tempranos en médula ósea. Los gránulos azurófilos primarios (PG), en principio agrupados cerca del núcleo, se desplazan hacia la periferia, donde en el aparato de Golgi se forman los gránulos neutrófilos específicos a medida que madura la célula. En forma gradual el núcleo se torna lobular (LN). Giemsa. **f)** Células inflamatorias del sitio de una hemorragia cerebral, con un gran macrófago activo en el centro que contiene eritrocitos fagocitados y notables vacuolas. Hacia la derecha hay un monocito con núcleo en herradura y cristales de bilirrubina (hematoidina) en el citoplasma. Se observan con claridad varios neutrófilos multinucleados. (Giemsa). **g)** Macrófagos en cultivos en monocapa tras la fagocitosis de micobacterias (teñidas de rojo). Carbolfucsina con contraste de verde de malaquita. **h)** Numerosos macrófagos alveolares grandes en espacios de aire dentro del pulmón. **i)** Basófilo con gránulos intensamente teñidos, comparado con un neutrófilos (parte inferior). **j)** Mastocito de médula ósea. Núcleo central redondo rodeado por grandes gránulos muy oscuros. En la parte inferior se muestran dos pequeños precursores de eritrocitos. Tinción de Romanowsky. **k)** Mastocitos tisulares en piel, teñidos con azul de toluidina. Los gránulos intracelulares son metacromáticos y se tiñen de color púrpura rojizo. Nótese la agrupación cerca de los capilares dérmicos. (Las diapositivas de las que se reprodujeron las ilustraciones **a)**, **b)**, **d)**, **e)**, **f)**, **i)** y **j)** fueron gentilmente cedidas por el Sr. M. Watts, del Departamento de Hematología del Middlesex Hospital Medical School; **c)** fue gentileza del profesor J.J. Owen; **g)** de los profesores P. Lydyard y G. Rook; **h)** del doctor Meryl Griffiths, y **k)** del profesor N. Woolf.)

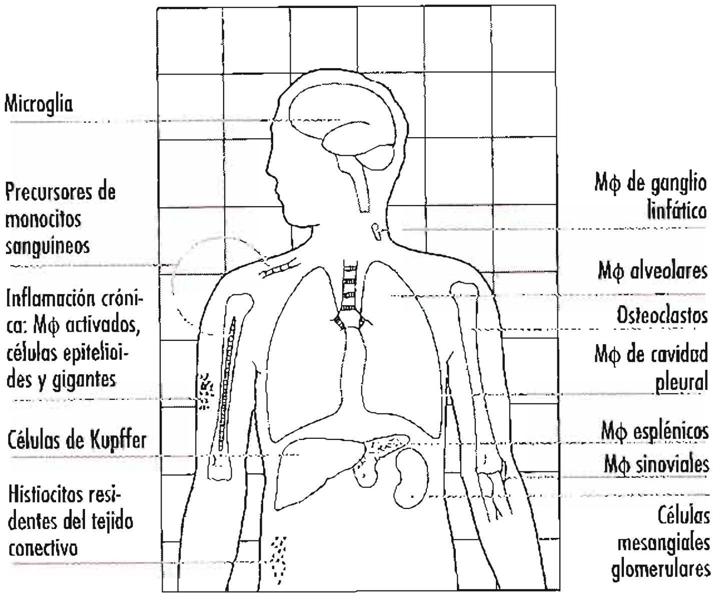

Microglia
Precursores de monocitos sanguíneos
Inflamación crónica: Mφ activados, células epitelioides y gigantes
Células de Kupffer
Histiocitos residentes del tejido conectivo
Mφ de ganglio linfático
Mφ alveolares
Osteoclastos
Mφ de cavidad pleural
Mφ esplénicos
Mφ sinoviales
Células mesangiales glomerulares

Fig. 1-5. Sistema fagocítico mononuclear. Los precursores promonocitos de la médula ósea evolucionan a monocitos de la sangre circulante, que luego se distribuyen por todo el organismo como macrófagos maduros (Mφ), según se muestra. La otra célula fagocítica importante, el neutrófilo polimorfonuclear, está en su mayor parte confinado al torrente sanguíneo, salvo cuando es reclutado por los sitios de inflamación aguda.

En su mayor parte estos receptores de reconocimiento de patrones (PRR) son similares a lectinas y se fijan en forma multivalente y con considerable especificidad a los azúcares de la superficie microbiana expuestos, con sus características configuraciones tridimensionales rígidas (PAMP). No se unen en forma apreciable a los grupos de galactosa o ácido siálico, que suelen ser los azúcares último y penúltimo de los polisacáridos de superficie de los mamíferos. Entre los PAMP relacionados con infecciones extracelulares se incluyen lipopolisacáridos gramnegativos (LPS), ácido lipoteicoico grampositivo, mananos de la pared celular de levaduras (véase fig. 1-8) y glucolípidos micobacterianos. Son ejemplos de PAMP relacionados con infecciones intracelulares las secuencias no metiladas CpG (guanosina-citosina) de DNA bacteriano y el RNA bicatenario de los virus RNA.

La intervención del receptor de reconocimiento de patrón genera una señal, a través de una vía de factor de transcripción NFκB, que alerta a la célula sobre el peligro e inicia el proceso fagocítico. Se justifica observar con mayor detenimiento el manejo de LPS gramnegativo (endotoxina), dado que en caso contrario se puede producir un shock séptico. La porción de lípido A biológicamente reactiva de LPS es reconocida por una proteína plasmática fijadora de LPS y el complejo capturado por la molécula CD14 recolectora de detritos en la célula fagocítica. A su vez, ésta activa un receptor del tipo Toll, que por su parte desencadena un conjunto de procesos que culminan en la liberación del NFκB a partir de su inhibidor; el NFκB se transloca hacia el núcleo e induce la fagocitosis con liberación de mediadores proinflamatorios (fig. 1-6).

La muerte celular programada (apoptosis; véase más delante) es un componente esencial del desarrollo embrionario y el mantenimiento del estado fisiológico normal. Las células muertas deben eliminarse por fagocitosis, pero dado que no representan ningún "peligro", esto tiene lugar en forma silenciosa, sin activar las señales de alarma. En consecuencia, el reconocimiento de las células apoptóticas por los macrófagos en forma directa, a través del receptor CD14, e indirecta, a través de la unión de C1q a ampollas de nucleosomas de superficie (véase pág. 487), tiene lugar sin provocar la liberación de mediadores proinflamatorios. En agudo contraste, las células lesionadas por infecciones que se tornan necróticas liberan proteína 60 endógena de shock térmico, que actúa como señal de peligro para las células fagocíticas y establece una respuesta inflamatoria protectora.

Los microbios son captados por células fagocíticas activadas

Tras la adherencia del microorganismo a la superficie del neutrófilo o macrófago, a través del reconocimiento de un PAMP (fig. 1-7-2), la señal obtenida (fig. 1-7-3) inicia la fase de ingestión al activar un sistema contráctil de actina-miosina que extiende seudópodos alrededor de la partícula (figs. 1-7-4 y 1-8); a medida que a la superficie del microorganismo se adosan en secuencia receptores adyacentes, la membrana plasmática es traccionada alrededor de la partícula en forma similar a un cierre relámpago, hasta incluirla por completo en una vacuola (fagosoma; figs. 1-7-5 y 1-9). Los procesos se suceden a continuación con eficiencia y al cabo de un minuto los gránulos citoplasmáticos se fusionan con el fagosoma y se liberan sus contenidos alrededor del microorganismo capturado (figs. 1-7-7 y 1-9), que es sometido a la acción de una poderosa batería de mecanismos bactericidas.

Existe un amplio espectro de mecanismos de eliminación

Destrucción mediante intermediarios reactivos del oxígeno

Para el invasor el problema comienza en el momento en que se inicia la fagocitosis. Hay un notable incremento del shunt de hexosamonofosfato, que genera menor cantidad del nicotinamida adeni-

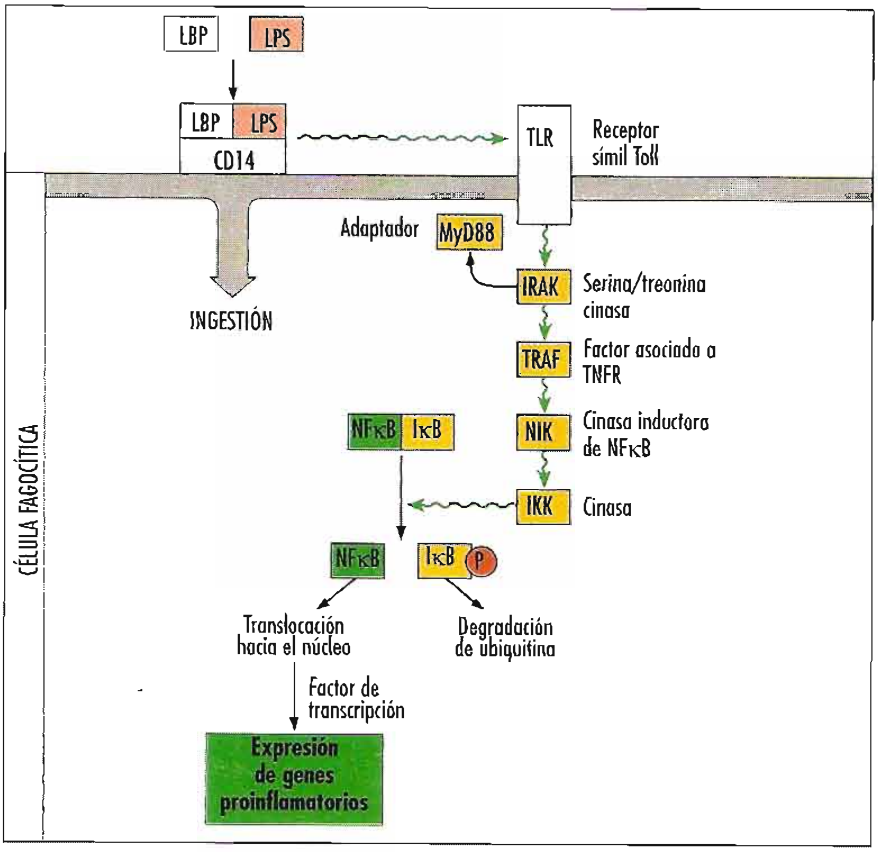


Fig. 1-6. Activación de una célula fagocítica por una señal de peligro de un LPS gramnegativo (endotoxina). El LPS circulante forma un complejo con la proteína fijadora de LPS (LPB) y es capturado por el receptor superficial recolector de detritos CD14 (véanse las definiciones de CD en pág.163). Esto señala la internalización del complejo y activa el receptor símil Toll (TLR), que luego inicia una cascada de fosforilación mediada por distintas enzimas cinasas. Ésta induce la liberación del factor de transcripción NFκB de su inhibidor IκB y su translocación hacia el núcleo; allí regula hacia arriba los genes codificadores de factores defensivos, como el factor de necrosis tumoral (TNF), péptidos antibióticos y NADPHoxidasa, que genera intermediarios reactivos de oxígeno (véase más adelante). El receptor símil Toll es una molécula rica en leucina, homóloga del componente Toll, que señala los procesos de diferenciación embrionaria tempranos en *Drosophila*. El TLR no es en sí un PRR y no proporciona una señal de internalización, como se demuestra por la capacidad de un mutante doble del adaptador MyD88 de internalizar microorganismos unidos a un PRR, sin producir mediadores inflamatorios como el TNF. El TLR parece controlar el tipo de respuesta defensiva a distintos microorganismos. Por lo tanto, TLR4 genera la respuesta a bacterias gramnegativas y LPS, mientras que TLR2 desempeña un papel clave en las infecciones por levaduras y por bacterias grampositivas.

na dinucleótido fosfato reducido (NADPH). Los electrones pasan desde NADPH a una flavoproteína de membrana que contiene flavinaadeninadinucleótido (FAD) y luego a un **citocromo (cyt b_{558})** plasmático singular, con potencial rédox de punto medio –245 mV, muy bajo, lo que le permite reducir el oxígeno molecular directamente a anión superóxido (fig. 1-10a). En consecuencia, la reacción clave catalizada por esta NADPH oxidasa, que inicia la formación de intermediarios reactivos del oxígeno (IRO) es la siguiente:

$$\mathrm{NADPH} + \mathrm{O_2} \xrightarrow{\text{oxidasa}} \mathrm{NADPT^+} + \mathrm{O_2^-}\ \text{(anión superóxido)}$$

El anión superóxido se convierte en peróxido de hidrógeno bajo la influencia de la superóxido dismutasa y luego en radicales hidroxilo (·OH). Cada uno de estos productos tiene notable reactividad química y una amplia variedad de blancos moleculares, por lo que son agentes antimicrobianos poderosos; en particular, el ·OH es uno de los radicales libres más reactivos que se conocen. Además, la combinación de peróxido, mieloperoxidasa e iones haluro constituye un poderoso sistema halogenante, capaz de destruir bacterias y virus (fig. 1-10a). Si bien H_2O_2 y los compuestos halogenados no son tan activos como los radicales libres, son más estables, por lo que se difunden mejor y, en consecuencia, son tóxicos para los microorganismos en el entorno extracelular.

Destrucción mediante intermediarios reactivos del nitrógeno

El óxido nítrico era considerado un destacado mediador fisiológico, cuando se demostró que era idéntico al factor de relajación derivado del endotelio. Se ha demostrado que ésta es sólo una de sus

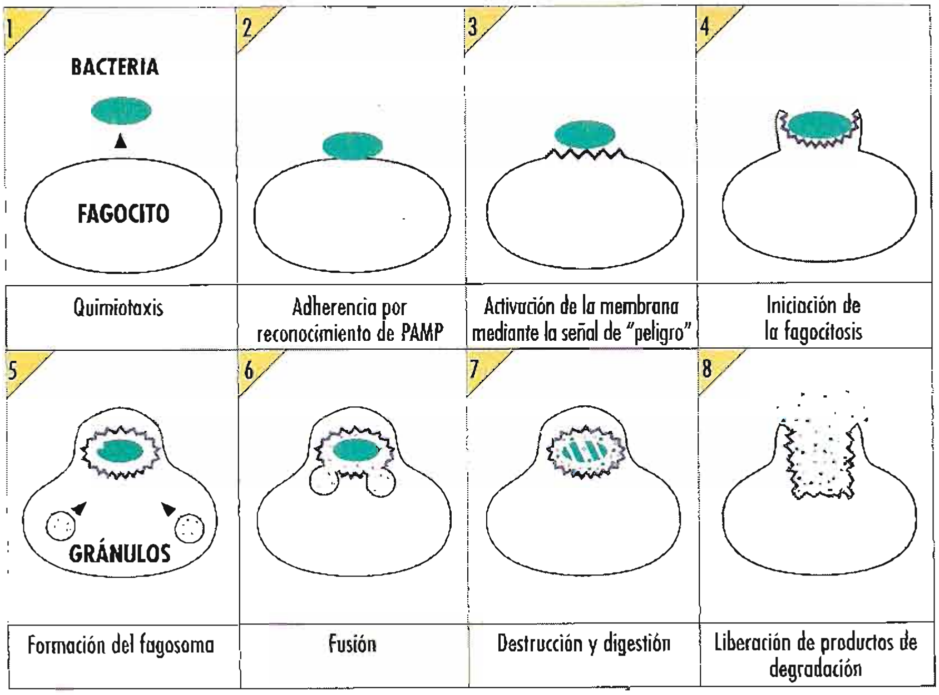

1
BACTERIA
FAGOCITO
Quimiotaxis
2
Adherencia por reconocimiento de PAMP
3
Activación de la membrana mediante la señal de "peligro"
4
Iniciación de la fagocitosis
5
GRÁNULOS
Formación del fagosoma
6
Fusión
7
Destrucción y digestión
8
Liberación de productos de degradación

Fig. 1-7. Fagocitosis y destrucción de una bacteria. Estadios 3/4, estallido respiratorio y activación de NADPH oxidasa; estadio 5, daño por intermediarios reactivos de oxígeno; estadios 6/7, daño por acción de peroxidasas, proteínas catiónicas, defensinas peptídicas antibióticas, lisozima y lactoferrina.

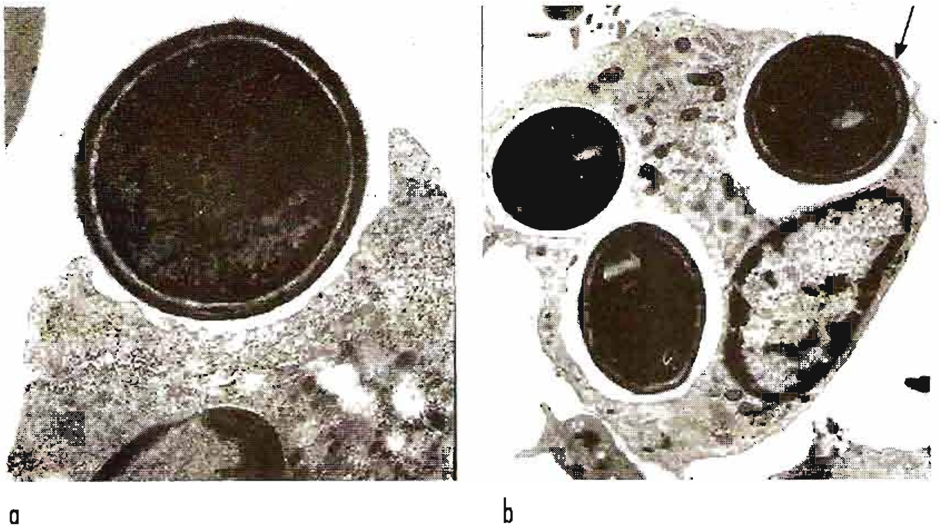


Fig. 1-8. Adherencia y fagocitosis. a) Fagocitosis de *Candida albicans* por un leucocito polimorfonuclear (neutrófilo). La adherencia al manano superficial de la pared de la levadura inicia la inclusión de la partícula fúngica dentro de los brazos de citoplasma. Los gránulos lisosómicos son abundantes, mientras que hay escasas mitocondrias (× 15.000). **b)** Fagocitosis de *C. albicans* por un monocito, donde se muestra la formación casi completa del fagosoma (*flechas*) alrededor de un microorganismo y la ingestión completa de otros dos (× 5.000). (Gentileza del doctor H. Valdimarsson.)

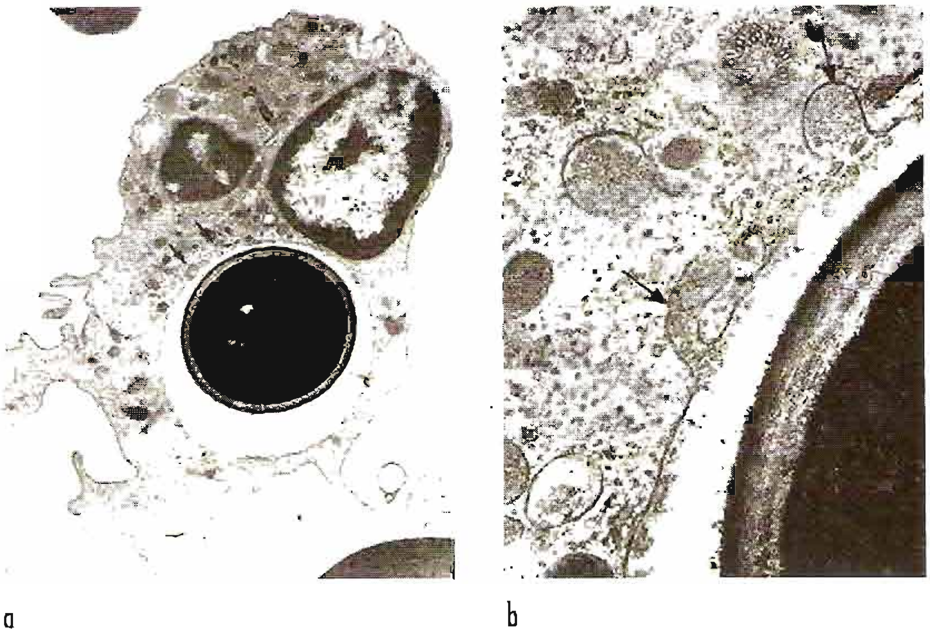
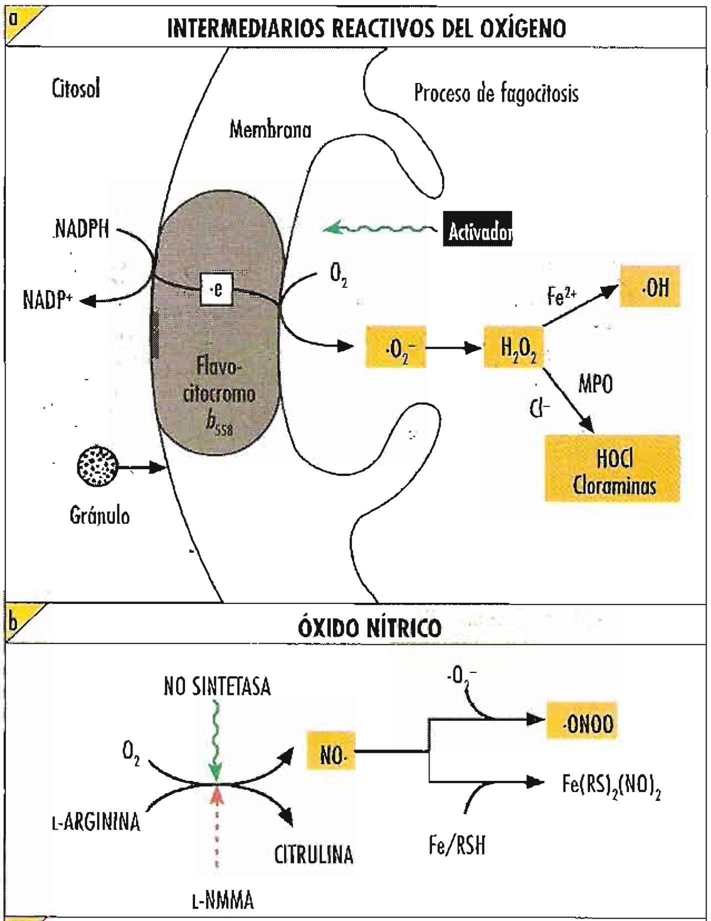


Fig. 1-9. Formación de fagolisosoma. **a)** Neutrófilo 30 minutos después de la ingestión de *C. albicans*. El citoplasma ya está desgranulado en parte y dos gránulos de lisosoma (*flechas*) se fusionan con la vacuola fagocítica. Se destacan dos lóbulos del núcleo (× 5.000). **b)** Imagen con mayor aumento de **a)**, donde se observan gránulos fusionados que descargan su contenido en la vacuola fagocítica (flechas) (× 33.000). (Gentileza del doctor H. Valdimarsson.)

numerosas funciones (también media en la erección del pene), pero en este contexto tiene mayor interés su formación debida a una NO· sintetasa inducible (iNOS) dentro de la mayoría de las células, pero sobre todo en macrófagos y neutrófilos humanos, por lo que crea un poderoso sistema antimicrobiano (fig. 1-10b). Mientras que la NADPH oxidasa tiene la función de destruir microorganismos extracelulares, captados por fagocitosis y encerrados dentro de la vacuola fagocítica el mecanismo NO· puede operar contra agentes que invaden el citosol; por lo tanto, no sorprende que la mayoría de las células no fagocíticas, capaces de ser infectadas por virus y otros parásitos, presenten capacidad iNOS. El mecanismo de acción podría incluir la degradación de los grupos prostéticos Fe-S de determinadas enzimas transportadoras de electrones, la disminución de hierro y la producción de radicales tóxicos ·ONOO. En la actualidad se sabe que el gen *N-ramp*, relacionado con la resistencia a microorganismos como el bacilo de Calmette-Guérin (BCG), *Salmonella* y *Leishmania*, capaces de vivir en un hábitat intracelular, expresa una proteína integrante de un canal de transmembrana que podría intervenir en el transporte de NO· a través de las membranas de los lisosomas.

Destrucción mediante antimicrobianos preformados (fig. 1-10c)

Estas moléculas contenidas en los gránulos de los polimorfonucleares entran en contacto con el microorganismo ingerido cuando tiene lugar la fusión con el fagosoma. La dismutación del superóxido consume los iones hidrógeno y eleva ligeramente el pH de la vacuola, lo que permite el funcionamiento óptimo de la familia de péptidos y proteínas catiónicos. Los péptidos se denominan **α-defensinas**, pesan 3,5-4 kDa y siempre poseen un alto contenido de arginina, que en el fagosoma alcanza concentraciones increíblemente elevadas, del orden de 20-100 mg/mL. Al igual que las colicinas bacteria-



c MECANISMOS INDEPENDIENTES DEL OXÍGENO

Catepsina G Defensinas de bajo peso molecular Proteínas catiónicas de alto peso molecular Proteína incrementadora de la permeabilidad bacteriana (BPI)	Daño a las membranas microbianas
Lisozima	Escinde los mucopéptidos de la pared celular bacteriana
Lactoferrina	Forma complejos con hierro
Enzimas proteolíticas Diversas otras enzimas hidrolíticas	Digestión de microorganismos destruidos

Fig. 1-10. Mecanismos antimicrobianos de las células fagocíticas. a) Producción de intermediarios reactivos del oxígeno. Los electrones del NADPH son transferidos por la enzima flavocitocromo-oxidasa al oxígeno molecular, para formar las especies moleculares antimicrobianas que se muestran en los recuadros. [*Para los más estudiosos:* el agente que desencadena la fagocitosis se fija a un receptor transmembrana de siete dominios, ligado a proteína G clásica, que activa una proteína intracelular fijadora de trifosfato de guanosina (GTP). A su vez, esta última proteína activa un conjunto de enzimas: la fosfoinositol-3-cinasa, que interviene en la reorganización citoesquelética subyacente a las respuestas quimiotácticas (pág. 10), la fosfolipasa-Cγ2, que media los procesos tendientes a la desgranulación lisosómica, y la fosforilación de phox p47, a través de la activación de la proteincinasa C y de las cinasas MEK y MAP (véase fig. 9-6), que controlan el ensamblaje de la NADPH oxidasa. Esta última enzima se compone del citocromo b_{558} de la membrana, que consiste en una proteína hémica p21 ligada a gp91 con sitios de unión para NADPH y FAD en su cara intracelular, donde se translocan p47 y p67 fosforilados desde el citosol al activarse la oxidasa.] b) Generación de óxido nítrico. La enzima se asemeja a NADPH en su estructura y puede ser inhibida por el análogo de arginina *N*-monometil-L-arginina (L-NMMA). La combinación de NO· con anión superóxido produce el muy tóxico radical peroxinitrito ·ONOO, que se escinde al aceptar un protón y forma moléculas reactivas ·OH y NO_2. El NO· puede formar complejos mononucleares ditioldinitrosos, lo que trae como consecuencia el agotamiento de los depósitos de hierro y la inhibición de varias enzimas. c) La base de los sistemas antimicrobianos independientes de oxígeno.

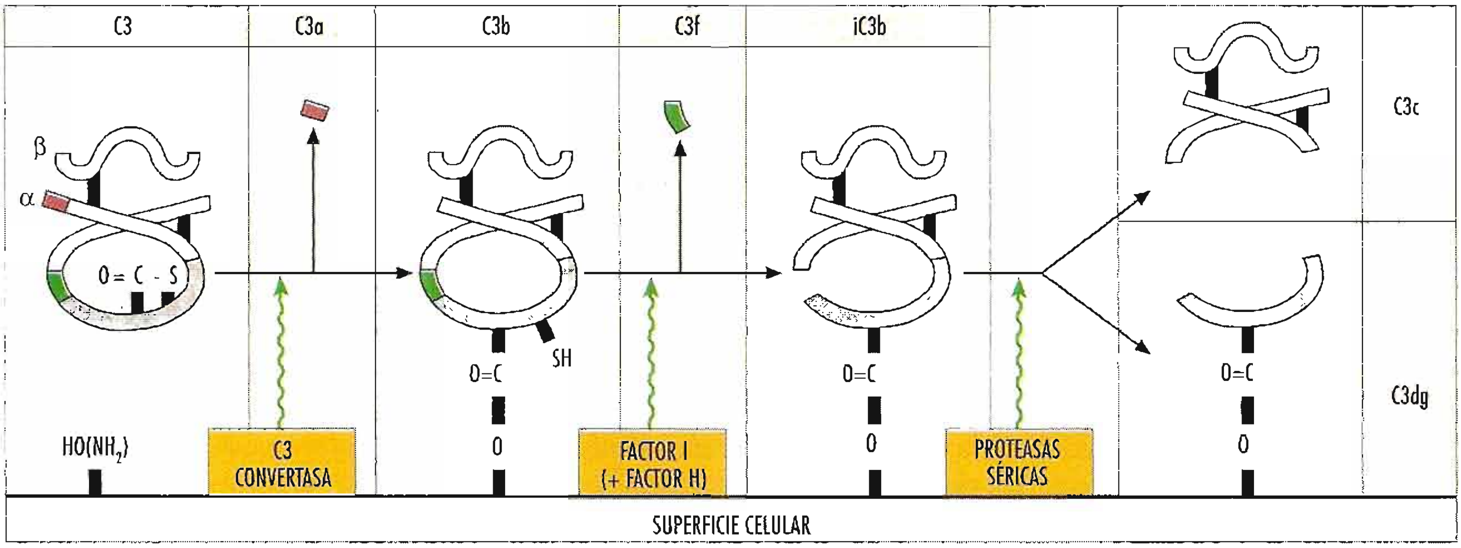


Fig. 1-11. Base estructural del clivaje de C3 por la C3 convertasa y su enlace covalente con grupos -OH o -NH$_2$ en la superficie celular, por exposición de los enlaces tioléster internos. El posterior clivaje produce fragmentos cada vez más pequeños, C3dg y C3d, adosados a la membrana. (Basado en lo esencial en Law SHA & Reid KBM (1988) *Complement*, figura 2-4. IRL Press, Oxford.)

nas recién descritas, su estructura anfipática les permite insertarse en las membranas microbianas y formar canales iónicos desestabilizantes regulados por voltaje (cabe preguntarse "quién" copió a "quién"). En concentraciones de 10-100 µg/mL, estos péptidos antibióticos actúan como desinfectantes contra un amplio espectro de bacterias grampositivas y gramnegativas, muchos hongos y varios virus con envoltura. Muchos exhiben una notable selectividad para los microorganismos procariontes y eucariontes con respecto a las células huésped, que en parte depende de la diferente composición lipídica de las membranas. Impresiona la capacidad de esta herramienta, de una simpleza sorprendente, para discriminar grandes clases de células no propias, es decir, los microorganismos, de lo propio.

Como si esto no fuera suficiente, las membranas bacterianas son lesionadas además por acción de una proteinasa neutra (catepsina G) y por transferencia directa a la superficie microbiana de BPI, lo que incrementa la permeabilidad bacteriana. El pH bajo, la lisozima y la lactoferrina constituyen factores bactericidas o bacteriostáticos, independientes del oxígeno, que pueden actuar en condiciones de anaerobiosis. Por último, los microorganismos destruidos son digeridos por enzimas hidrolíticas y los productos de degradación se liberan al exterior (fig. 1-7-8).

Por el momento se acepta que el lector presuponga estar amparado por el impresionante potencial antimicrobiano de las células fagocíticas. Pero se deben considerar ciertos obstáculos; nuestro formidable arsenal es inútil a menos que el fagocito pueda i) ser "atraído" por el microorganismo, ii) adherirse a él y iii) responder mediante la activación de la membrana que inicia la inclusión. Algunas bacterias producen sustancias químicas, como el péptido formil-Met.Leu.Phe, que atraen y dirigen los leucocitos a través de un proceso denominado **quimiotaxis**; numerosos microorganismos se adhieren a la superficie del fagocito y muchos generan en forma espontánea la señal de membrana de iniciación adecuada. No obstante, los abundantes adversarios microbianos sufren constantes mutaciones que generan nuevas especies capaces de superar las defensas, al producir compuestos diferentes de los mencionados. Resta entonces preguntarse qué hacer. El microorganismo ha resuelto estos problemas con la facilidad que proviene de varios millones de años de evolución, mediante el desarrollo del sistema del **complemento**.

EL COMPLEMENTO FACILITA LA FAGOCITOSIS

El complemento y su activación

Con la denominación complemento se designa un conjunto complejo de alrededor de 20 proteínas, que junto con la coagulación sanguínea, la fibrinólisis y la formación de cininas constituyen uno de los sistemas de enzimas activadoras desencadenantes encontradas en el plasma. Estos sistemas se caracterizan por producir una respuesta rápida y muy amplificada frente a un estímulo desencadenante mediado por un fenómeno en cascada, en el cual el producto de una reacción es el catalizador enzimático de la próxima.

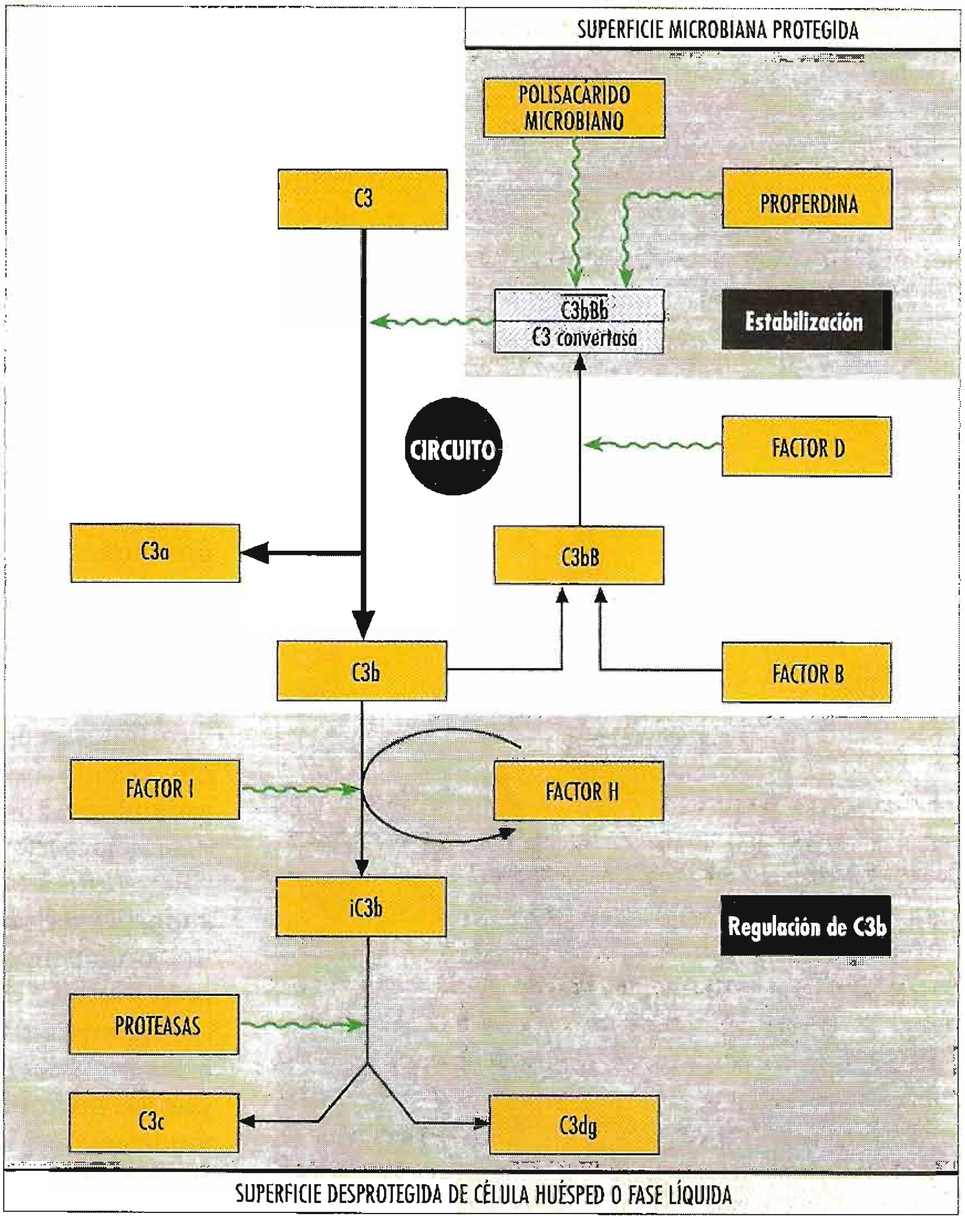


Fig. 1-12. Activación microbiana de la vía alternativa del complemento por estabilización de la C3 convertasa (C3bBb) y su control por los factores H e I. Cuando está unido a la superficie de una célula huésped o en la fase líquida, se dice que el C3b de la convertasa está desprotegido, dado que su afinidad por el factor H es mucho mayor que por el factor B, por lo que es susceptible a la degradación por los factores H e I. Sobre una superficie microbiana, C3b se fija al factor B con mucho mayor fuerza que al factor H, por lo que está "protegido" o "estabilizado" contra el clivaje, en particular cuando luego se une a properdina. Si bien en términos filogenéticos ésta es la vía más antigua del complemento, se descubrió después de otra que se analizará en el próximo capítulo, por lo que recibió la denominación "alternativa" ⇝ que puede generar confusión. Las flechas onduladas representan un proceso de activación. La barra horizontal sobre un complemento designa su activación.

Algunos de los componentes del complemento se designan con la letra "C" seguida por un número relacionado más con la cronología de su descubrimiento que con su posición en la secuencia de reacción. El componente más abundante y esencial es C3, con peso molecular de 195 kDa y una concentración plasmática de alrededor de 1,2 mg/mL.

C3 sufre lento clivaje espontáneo

En condiciones normales, un enlace tioléster interno en C3 (fig. 1-11) sufre activación espontánea a muy escasa velocidad, ya sea por reacción con agua o con vestigios de una enzima proteolítica plasmática, para formar un compuesto intermedio reactivo, sea éste el producto de escisión C3b o una molécula de función similar denominada C3i, o C3(H_2O). En presencia de Mg^{2+} se pueden formar complejos con otro componente del complemento, el factor B, que luego sufre un clivaje por una enzima normal del plasma (factor D) para generar C3bBb. Cabe destacar que por convención se ha establecido que una barra sobre un complejo denota actividad y que en el clivaje de un componente del complemento por lo general se denomina con el sufijo "b" el producto de mayor tamaño, y con "a" el más pequeño.

C3bBb posee una importante actividad enzimática nueva: es una **C3 convertasa**, capaz de dividir C3 para dar C3a y C3b. Se analizarán brevemente las importantes consecuencias biológicas del clivaje de C3 relacionadas con las defensas microbianas, pero en condiciones normales debe haber algún mecanismo que restrinja este proceso hasta un nivel de "derramamiento", dado que también puede dar origen a más C3bBb, es decir, se trata de un **circuito de retroalimentación positiva** con potencial de descontrol (fig. 1-12). Como ocurre con todas las cascadas con potencial explosivo, existen poderosos mecanismos reguladores.

La concentración de C3b suele estar muy bien controlada

En solución, la $\overline{\text{C3bBb}}$ convertasa es inestable y el factor B es desplazado con facilidad por otro componente, el factor H, para formar C3bH susceptible de ser atacado por el factor I, inactivador de C3b (fig. 1-12; mayores detalles en la pág. 349). El iC3b inactivado carece de actividad biológica y es sometido a degradación ulterior por acción de las proteasas de los líquidos corporales. Más adelante se analizarán otros mecanismos reguladores (véase pág. 349).

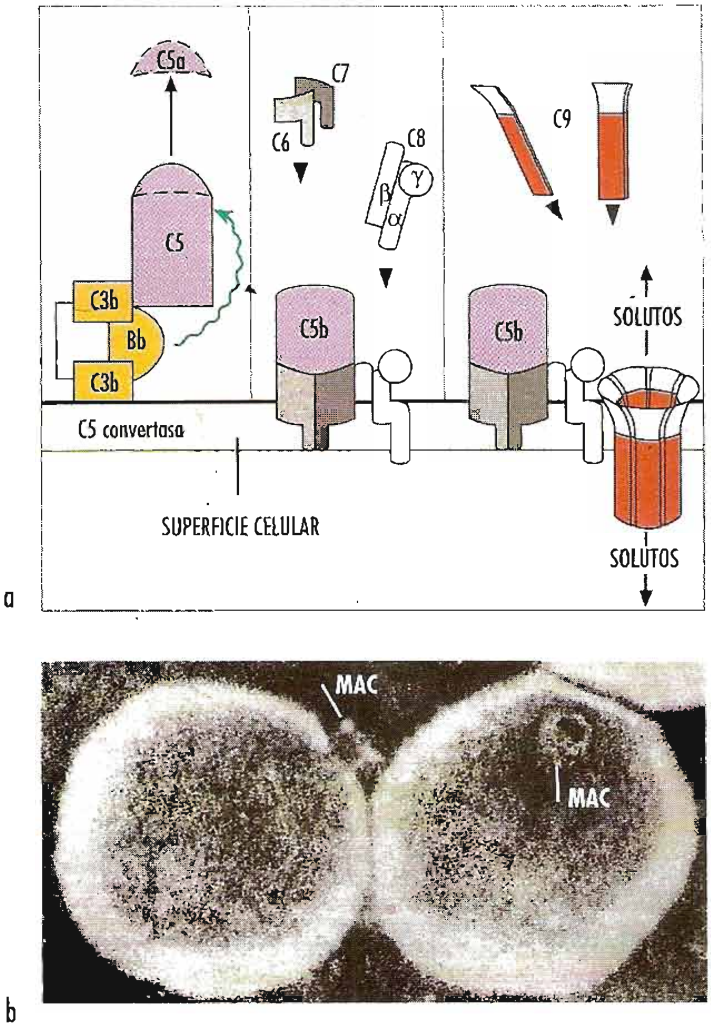


Fig. 1-13. Vía posterior a C3 que genera C5a y el complejo de ataque de membrana C5b-9 (MAC). a) Esquema de ensamblaje molecular. El cambio de conformación de la estructura de la proteína C9, que la convierte de una molécula hidrófila en otra anfipática (portadora de regiones hidrófobas e hidrófilas) se puede interrumpir mediante un anticuerpo generado contra péptidos lineales derivados de C9; dado que el anticuerpo no reacciona con las formas solubles o unidos a membrana de la molécula, debe detectar una estructura intermedia revelada en forma transitoria en un reordenamiento estructural asentado muy profundo. **b)** Microfotografía electrónica de un complejo de membrana C5-9 incorporado en membranas liposómicas que muestran con claridad la estructura anular. El complejo cilíndrico se aprecia desde el lateral, insertado en la membrana del liposoma de la izquierda, y desde el extremo en el de la derecha. Si bien es una estructura espléndida, es posible que la formación del cilindro anular C9 no sea esencial para la perturbación citotóxica de la membrana de la célula blanco, dado que eso se puede lograr mediante la inserción de moléculas C9 anfipáticas demasiado escasas para formar un MAC definido con claridad. (Gentileza del profesor J. Tranum-Jensen y el doctor S. Bhakdi.)

La C3 convertasa se estabiliza en la superficie microbiana

Varios microorganismos pueden activar la $\overline{\text{C3bBb}}$ convertasa, para generar gran cantidad de productos de clivaje de C3 mediante la estabilización de la enzima en sus superficies (hidrocarbonadas), por lo que se protege el C3b del factor H. Otra proteína, la properdina, actúa entonces sobre esta convertasa fijada para estabilizarla mejor. A medida que C3 es estabilizado por la enzima unida a la membrana de superficie, para formar C3b naciente, sufre un cambio de conformación y se expone el enlace tioléster interno con potencial reactivo. Dado que la vida media de C3b naciente es inferior a 100 microsegundos sólo puede difundir a través de una distancia corta antes de formar enlaces covalentes con grupos hidroxilo o amino disponibles sobre la superficie celular microbiana (fig. 1-11). De este modo, cada sitio catalítico produce acumulación de gran cantidad de moléculas de C3b sobre el microorganismo. Este conjunto de reacciones dirigidas a la degradación de C3, provocada directamente por los microbios, se ha denominado **vía alternativa** de activación del complemento (fig. 1-12).

La vía posterior a C3 genera un complejo de ataque de membrana

El reclutamiento de otra molécula de C3b por el complejo enzimático $\overline{\text{C3bBb}}$ genera una C5 convertasa, que activa C5 por clivaje proteolítico; éste libera un polipéptido pequeño, C5a, y queda el fragmento C5b de mayor tamaño unido en forma laxa con C3b. El agregado en secuencia de C6 y C7 a C5b forma un complejo con un sitio de fijación de membrana transitorio y afinidad por la cadena de péptido β de C8. La cadena C8α se ubica sobre la membrana y dirige los cambios de conformación en C9, que lo transforman en una molécula anfipática capaz de insertarse en la bicapa lipídica (véase colicinas, pág. 2) y la polimerización para formar un **complejo de ataque de membrana** anular (MAC; figs. 1-13 y 2-4). Se forma así un canal transmembrana totalmente permeable para electrólitos y agua en el cual, debido a la elevada presión osmótica coloidal interna, hay un flujo neto hacia el interior de Na^+ y agua que a menudo produce la lisis.

El complemento posee una diversidad de funciones biológicas defensivas

Estas funciones se pueden agrupar de un modo conveniente en tres rubros:

1 C3b se adhiere a los receptores para el complemento

Las células fagocíticas poseen receptores para C3b (CR1) e iC3b (CR3), que facilitan la adherencia de los microorganismos recubiertos por C3b a la superficie celular (véase con mayor detalle en la pág. 291).

2 Se liberan fragmentos con actividad biológica

Los pequeños péptidos C3a y C5a, escindidos de las moléculas originales durante la activación del complemento, tienen varias funciones importantes. Ambos actúan en forma directa sobre los fagocitos, en especial los neutrófilos, para estimular el estallido respiratorio asociado con la producción de intermediarios reactivos de oxígeno y aumentar la expresión de los receptores de superficie para C3b e iC3b. Además, ambos son **anafilatoxinas** por su capacidad para desencadenar la liberación de mediadores de los mastocitos (figs. 1-4k y 1-14) y su contrapartida circulante, el basófilo (fig. 1-4i), fenómeno de tal relevancia para este análisis que en la figura 1-15 se presentan detalles de los mediadores y sus acciones; nótense en particular las propiedades quimiotácticas de estos mediadores y sus efectos sobre los vasos sanguíneos. El C3a tiene por sí mismo acción quimiotáctica sobre los eosinófilos, mientras que C5a es un poderoso agente quimiotáctico de los neutrófilos y también posee una notable capacidad para actuar de manera directa sobre el endotelio capilar con producción de vasodilatación y mayor permeabilidad, efectos que parecen ser prolongados por leucotrieno B_4 liberado por mastocitos, neutrófilos y macrófagos activados.

3 El complejo terminal puede inducir lesiones de membrana

Como ya se describió, la inserción del complejo de ataque de membrana en una membrana puede producir lisis celular. Es providencial que el complemento sea bastante poco eficaz en la lisis de las membranas celulares autólogas del huésped, debido a la presencia de proteínas de control (véase pág. 349).

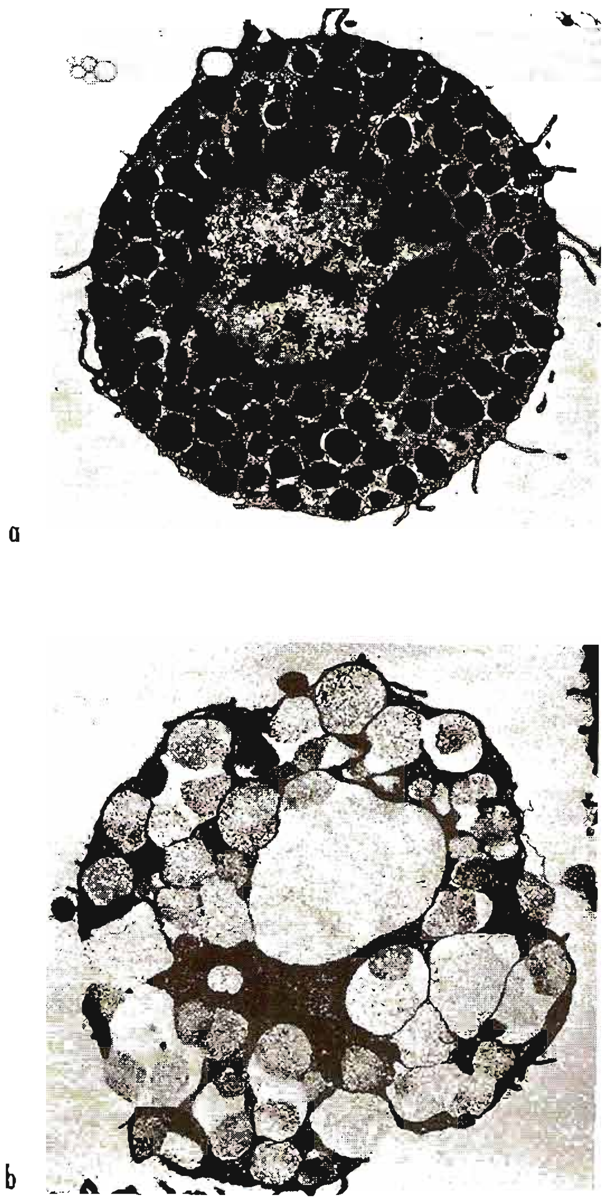


Fig. 1-14. El mastocito. a) Célula en reposo con muchos gránulos unidos a membrana que contienen mediadores preformados. b) Mastocito activado. Nótese que los gránulos han liberado sus contenidos y su morfología está alterada, por lo que son más grandes y menos electrondensos. Si bien la mayor parte de los gránulos alterados se mantiene dentro de la circunferencia de la célula, se abren al espacio extracelular. (Microfotografías electrónicas × 5.400.) [Gentileza de los doctores D Lawson, C Fewtrell, B Gomperts y MC Raff, *Journal of Experimental Medicine* 1975; 142, 391.]

EL COMPLEMENTO PUEDE MEDIAR UNA REACCIÓN INFLAMATORIA AGUDA

Ahora es posible organizar un escenario defensivo orquestado con eficacia e iniciado por la activación de la vía alternativa del complemento (véase fig. 1-16).

En el primer paso se estabiliza $\overline{C3bBb}$ sobre la superficie del microorganismo y cliva gran cantidad de C3. Se libera el fragmento C3a, pero las moléculas C3b se fijan en gran cantidad sobre el microorganismo y activan el próximo paso de la secuencia, para generar C5a y el complejo de ataque de membrana (si bien muchos microorganismos resisten su acción).

El mastocito desempeña un papel central

En el próximo acto, C3a y C5a y los mediadores liberados por los mastocitos intervienen en el reclutamiento de fagocitos polimorfonucleares y más componentes plasmáticos del complemento hacia el sitio de invasión microbiana. La relajación inducida en las paredes arteriolares incrementa el flujo sanguíneo y la dilatación de los vasos pequeños, mientras que la contracción de las células endoteliales capilares permiten la exudación de proteínas plasmáticas. Bajo la influencia de las quimiotaxinas los neutrófilos se desplazan con mayor lentitud y al estimularse la expresión de las moléculas de adhesión de superficie se marginan sobre las paredes de los capilares, a las que atraviesan por brechas entre las células endoteliales (diapédesis) a favor del gradiente de concentración de factores quimiotácticos, hasta que se enfrentan al microorganismo recubierto por C3b. Entonces tiene lugar la adhesión a los receptores C3b de los neutrófilos, los C3a y C5a, en concentraciones bastante elevadas en el gradiente quimiotáctico, activan el estallido respiratorio y puede comenzar la destrucción del último acto.

Los procesos de dilatación capilar (rubor), exudación de proteínas plasmáticas y de líquido (edema) debido a los cambios de presiones hidrostática y osmótica, y la acumulación de neutrófilos se denominan en conjunto **respuesta inflamatoria aguda**.

Los macrófagos también pueden hacerlo

Aunque aún no se ha establecido con la misma certeza que rodea la función del mastocito en la inflamación aguda, parece emerger el concepto de que el macrófago tisular podría mediar un conjunto paralelo de procesos con el mismo resultado final. Los procesos fagocíticos inespecíficos y ciertas toxinas bacterianas, como los lipopolisacáridos (LPS), pueden activar los macrófagos; pero no hay dudas de que la fagocitosis de microbios opsonizados con C3b y la acción directa de C5a, generado por activación del complemento, inducen una copiosa secreción celular de mediadores solubles de la respuesta inflamatoria aguda (fig. 1-17).

Estos compuestos estimulan la expresión de moléculas de adhesión para neutrófilos sobre la superficie de las células endoteliales, incrementan la permeabilidad capilar, y favorecen la quimiotaxis y la activación de los neutrófilos polimorfonucleares. En consecuencia, bajo el estímulo de la activación del complemento el macrófago sufre una serie de procesos celulares que refuerzan la vía mediada por los mastocitos, que conducen a la inflamación aguda, en otro de los sistemas redundantes de seguridad del organismo (a menudo denominado principio de "cinto y tiradores").

LOS MECANISMOS HUMORALES PROPORCIONAN UNA SEGUNDA ESTRATEGIA DEFENSIVA

Factores antimicrobianos en las secreciones

Al volver ahora a los sistemas de defensa mediados en su totalidad por factores solubles cabe recordar que muchos microorganismos activan el sistema del complemento y pueden ser lisados por la inserción del complejo de ataque de membrana. Es posible limitar la diseminación de la infección mediante enzimas liberadas por lesión tisular que activa el sistema de coagulación. De las sustancias bactericidas solubles elaboradas por el organismo, quizá la más abundante y difundida sea la enzima lisozima, una muraminidasa que escinde la pared de peptidoglucanos expuestos de las bacterias susceptibles (véase fig. 13-5).

Al igual que las α-defensinas de los gránulos de los neutrófilos, las β-defensinas humanas son péptidos derivados de precursores de mayor tamaño por escisión proteolítica; tienen estructuras en lámina β, 29-40 aminoácidos y tres enlaces disulfuro intramoleculares, aunque difieren de las α-defensinas en la localización de las seis cisteínas. La principal β-defensina humana, hDB-1, es producida en abundancia en el riñón, el aparato reproductor femenino, la mucosa oral y en especial las vías aéreas pulmonares. Dado que se postula que todos los días el organismo es infectado por cientos de miles de bacterias transportadas por vía aérea, debe ser un importante mecanismo de defensa. Así, la inhibición de hDB-1 y de una segunda defensina pulmonar, hDB-2, debida a la elevada fuerza iónica, podría ser responsable de la susceptibilidad a infecciones de los pacientes con fibrosis quística, dado que presentan una mutación del canal iónico que aumenta la concentración de cloruros en los líquidos de la superficie

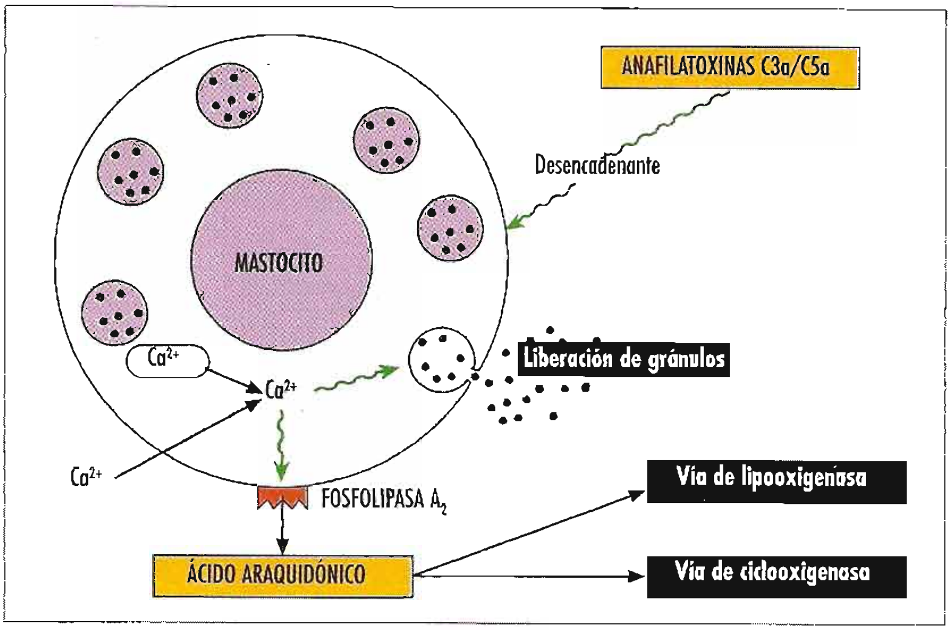


Fig. 1-15. La estimulación de mastocitos causa la liberación de mediadores a través de dos vías principales: i) liberación de mediadores preformados que se encuentran en los gránulos, e ii) metabolismo del ácido araquidónico producido por activación de una fosfolipasa. El Ca^{2+} y el AMP cíclico son esenciales para la iniciación de estos procesos, pero aún se desconocen los detalles. La estimulación de los mastocitos puede producirse mediante C3a, C5a e incluso por algunos microorganismos capaces de actuar de modo directo sobre los receptores de superficie celular. En la pág. 368 se estudia la heterogeneidad de los mastocitos. ECF, factor quimiotáctico de eosinófilos; GM-CSF, factor estimulador de colonias de granulocitos-macrófagos; NCF, factor quimiotáctico de neutrófilos. La quimiotaxis se refiere a la migración dirigida de los granulocitos contra el gradiente de concentración de la vía para el mediador.

	PREFORMADOS	EFECTO
Liberación de gránulos ►	HISTAMINA	Vasodilatación, mayor permeabilidad capilar, quimiocinesis, broncoconstricción
	PROTEOGLUCANO	Fija proteasas de los gránulos
	PROTEASAS NEUTRAS β GLUCOSAMINIDASA	Activa C3 Escinde glucosamina
	ECF NCF	Quimiotaxis de eosinófilos Quimiotaxis de neutrófilos
	FACTOR ACTIVADOR DE PLAQUETAS	Liberación de mediadores
	INTERLEUCINAS 3, 4, 5 y 6 GM-CSF, TNF	Activación múltiple, incluso de macrófagos, desencadena proteínas de fase aguda, etc. (véase

	RECIÉN SINTETIZADOS	EFECTO
Vía de lipooxigenasa ►	LEUCOTRIENOS C_4, D_4 (SRS-A), B_4	Vasoactivo, broncoconstricción, quimiotaxis
Vía de ciclooxigenasa ►	PROSTAGLANDINAS TROMBOXANOS	Afecta el músculo bronquial, la agregación plaquetaria y la vasodilatación

de las vías aéreas. Otro agente antimicrobiano de las vías aéreas con actividad contra bacterias gramnegativas y grampositivas es LL-37, un péptido alfahelicoidal de 37 restos liberado por proteólisis del precursor de una catelicidina (inhibidor de catepsina L).

Este tema se presenta también en el estómago, donde un péptido escindido de la lactoferrina por acción de la pepsina podría proveer cierta actividad antimicrobiana a las secreciones gástrica e intestinal. En muchas secreciones humanas aparece un péptido bastante más largo de dos dominios con 108 residuos, denominado inhibidor de leucoproteasa secretora (SLPI). El dominio C terminal es antiproteasa, pero el dominio N-terminal constituye un notable problema para células fúngicas con actividad metabólica y diversos microorganismos asociados a la piel, por lo que su producción por los queratinocitos humanos los torna especialmente adecuados. Vale destacar que muchos análogos de péptidos antibióticos con D-aminoácidos forman hélices con giro hacia la izquierda que retienen la capacidad de inducir la creación de canales iónicos de membrana y, en consecuencia, sus poderes antimicrobianos; debido a su resistencia al catabolismo en el organismo podrían ser interesantes candidatos para un nuevo tipo de antibióticos sintéticos. Por último, se pueden mencionar las dos proteínas surfactantes pulmonares SP-A y SP-D, que junto con diversos lípidos disminuyen la tensión superficial de las células de revestimiento epitelial del pulmón para mantener permeables las vías aéreas; per-

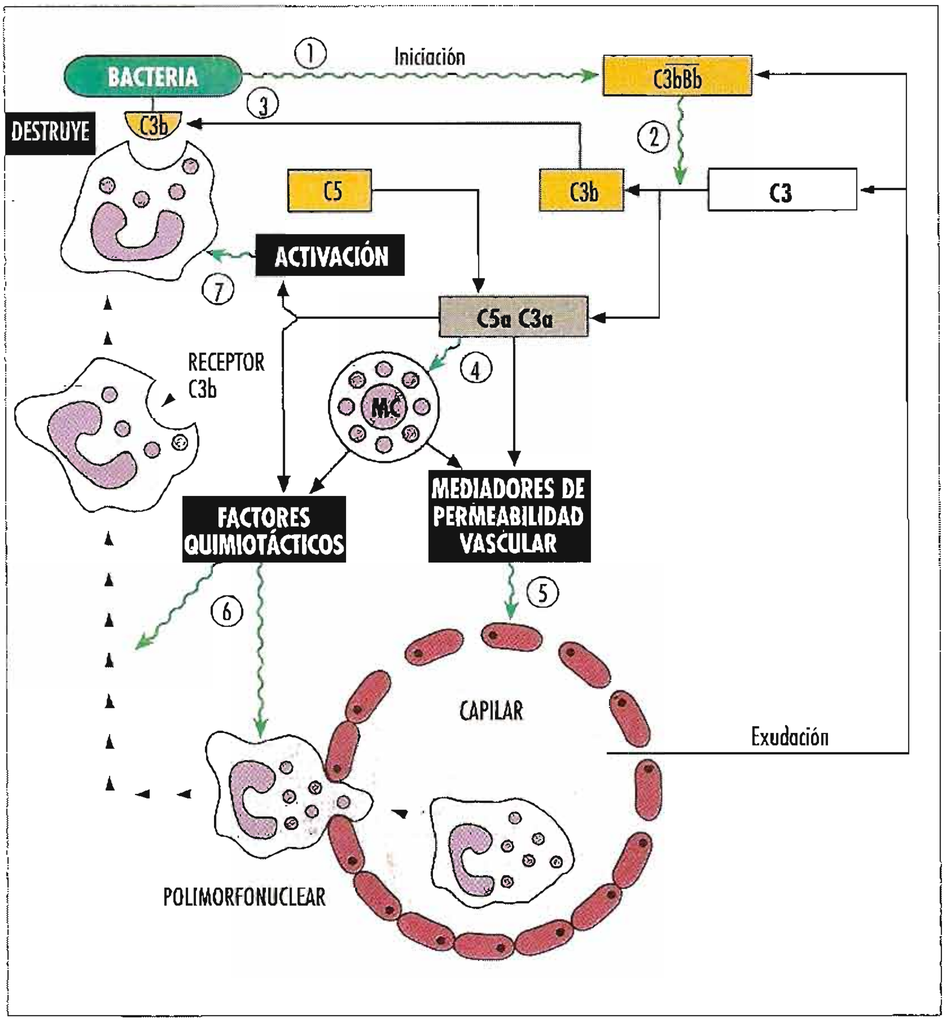

BACTERIA
①
Iniciación
C3bBb
③
DESTRUYE
C3b
②
C5
C3b
C3
ACTIVACIÓN
⑦
C5a C3a
RECEPTOR C3b
④
MC
FACTORES QUIMIOTÁCTICOS
MEDIADORES DE PERMEABILIDAD VASCULAR
⑤
⑥
CAPILAR
Exudación
POLIMORFONUCLEAR

Fig. 1-16. Estrategia defensiva de la reacción inflamatoria aguda iniciada por la activación bacteriana de la vía C alternativa. Directivas: 1, comienza con la activación de la C3bBb convertasa C3 por la bacteria; 2, nótese la generación de C3b (3, que se fija a la bacteria), C3a y C5a; 4, que reclutan mediadores de mastocitos; 5, sigue sus efectos sobre la dilatación capilar y el exudado de proteínas plasmáticas, y 6, su atracción quimiotáctica de neutrófilos hacia la bacteria recubierta por C3b y el triunfo en 7, de la adherencia, con activación final de neutrófilos para la destrucción.

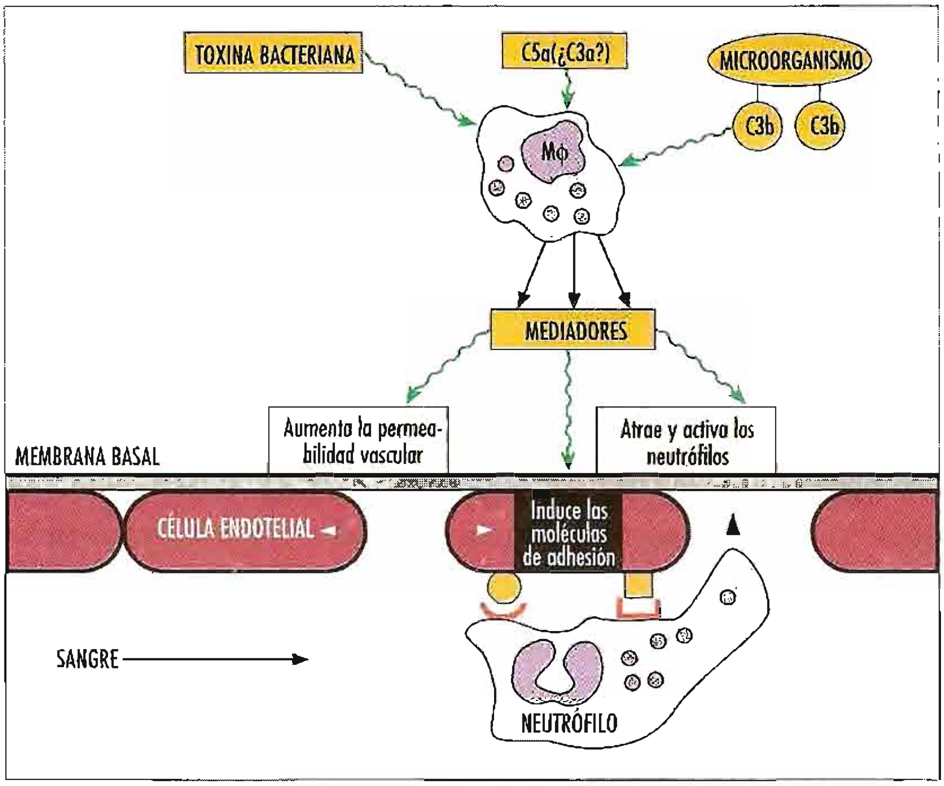

TOXINA BACTERIANA
C5a(¿C3a?)
MICROORGANISMO
C3b
C3b
Mφ
MEDIADORES
Aumenta la permeabilidad vascular
Atrae y activa los neutrófilos
MEMBRANA BASAL
CÉLULA ENDOTELIAL
Induce las moléculas de adhesión
SANGRE
NEUTRÓFILO

Fig. 1-17. La estimulación a través de componentes del complemento y toxinas bacterianas, como LPS, induce la secreción por los macrófagos de mediadiores de una respuesta inflamatoria aguda. Los neutrófilos de la sangre se pegan a las moléculas de adhesión de la célula endotelial y traccionan para forzar su paso entre las células, a través de la membrana basal (con ayuda de la elastasa secretada) y a favor del gradiente quimiotáctico.

tenecen a un grupo estructural de moléculas totalmente diferentes, denominadas colectinas (véase más adelante), y contribuyen a la inmunidad innata mediante la fijación de sus dominios símil lectinas a los hidratos de carbono del microorganismo, y su tallo de colágeno a receptores cognados sobre las células fagocíticas, por lo que facilitan la ingestión y la destrucción de los agentes infecciosos.

Las proteínas de fase aguda aumentan en respuesta a infecciones

Ciertas proteínas plasmáticas, denominadas en conjunto proteínas de fase activa, muestran un notable aumento de concentración en respuesta a mediadores tempranos de "alarma", como la interleucina 1 (IL-1) derivada de macrófagos y liberada como consecuencia de infección o lesión tisular. Son la proteína C reactiva (CRP), la proteína fijadora de manosa (MBP) y el componente P de amiloide sérico (cuadro 1-1). Entre otras proteínas de fase aguda cuya concentración aumenta en forma moderada se cuentan α_1-antiquimiotripsina, fibrinógeno, ceruloplasmina, C9 y factor B. En general es probable que la respuesta de fase aguda tenga un efecto beneficioso al incrementar la resistencia del huésped, minimizar la lesión tisular, y favorecer la resolución y la reparación de la lesión inflamatoria.

Por ejemplo, durante una infección los productos microbianos, como las endotoxinas, estimulan la liberación de IL-1, un pirógeno endógeno (en ciertos casos con capacidad para mejorar las defensas generales al elevar la temperatura del organismo), e IL-6. A su vez estos compuestos actúan sobre el hígado para incrementar la síntesis y secreción de CRP hasta el punto en que su concentración plasmática puede elevarse mil veces.

La CRP humana se compone de cinco polipéptidos idénticos unidos en forma no covalente y dispuestos como un pentámero cíclico alrededor de una cavidad fijadora de Ca. Estas **pentraxinas** proteicas se encuentran en el reino animal desde hace bastante tiempo, dado que un homólogo estrechamente relacionado, la limulina, aparece en la hemolinfa del cangrejo herradura, no precisamente un pariente cercano del *Homo sapiens*. Una de las principales propiedades de CRP es su capacidad de fijación dependiente de calcio, como molécula de reconocimiento de patrón, a numerosos microorganismos que contienen fosforilcolina en sus membranas; el complejo posee la útil propiedad de activar el complemento (por la vía clásica y no por la vía alternativa que conocemos hasta ahora e inducir el depósito de C3b sobre la superficie del microorganismo, que queda **opsonizado** (es decir "listo para la mesa") para su adherencia a los fagocitos.

Cuadro 1-1. *Proteínas de fase aguda*

Reactante de fase aguda	Función
Notables incrementos de concentración:	
Proteína C reactiva	Fija complemento, opsoniza
Proteína fijadora de manosa	Fija complemento, opsoniza
Glucoproteína ácida α_1	Proteína de transporte
Componente P de amiloide sérico	Precursor de componente amiloide
Moderados aumentos de concentración:	
Inhibidores de proteinasa α_1	Inhibe proteasas bacterianas
Antiquimotripsina α_1	Inhibe proteasas bacterianas
C3, C9, factor B	Aumenta la función del complemento
Ceruloplasmina	Recolector de detritos $\cdot O_2^-$
Fibrinógeno	Coagulación
Angiotensina	Presión arterial
Haptoglobina	Fija la hemoglobina
Fibronectina	Fijación celular

Otro miembro de esta familia pentamérica es el componente P de amiloide sérico (SAP). Esta proteína puede formar un complejo con condroitinsulfato, un glucosaminoglucano de matriz celular, y luego fijarse a enzimas lisosómicas, como la catepsina B liberada dentro de un foco de inflamación. El SAP degradado se convierte en un componente de los depósitos amiloides fibrilares que acompañan las infecciones crónicas; incluso puede ser un iniciador clave para el depósito de amiloide (véase pág. 439).

Una importante opsonina de fase aguda es la **proteína fijadora de manosa (MBP)** dependiente de Ca, que puede reaccionar no sólo con manosa sino también con varios otros azúcares, lo que le permite unirse con una variedad excepcionalmente amplia de bacterias gramnegativas y grampositivas, levaduras, virus y parásitos; debido a su posterior capacidad para desencadenar la C3 convertasa clásica, a través de dos nuevas serinoproteasas asociadas (MASP-1 y MASP-2), se la califica como opsonina. (Por favor, tómenlo con calma, en el próximo capítulo se desentrañarán los secretos de la vía clásica.) La MBP es un múltiplo de complejos triméricos y cada unidad contiene una región símil colágeno unida a un dominio globular fijador de lectina. Esta estructura la ubica en la familia de las **co-**

lectinas (colágeno + **lectina**), las cuales poseen la capacidad de reconocer patrones de hidratos de carbono "extraños" diferentes de los polisacáridos de superficie "propios", por lo general con grupos terminales de galactosa y ácido siálico, mientras que la región de colágeno se puede fijar a las células fagocíticas y activarlas a través de receptores complementarios sobre su superficie. Las colectinas, en especial MBP y las moléculas surfactantes alveolares SP-A y SP-D ya mencionadas, poseen muchos atributos que las califican para funciones de primera línea en la inmunidad innata, entre ellas capacidad para diferenciar lo propio de lo no propio, fijarse a diversos microorganismos, generar mecanismos efectores secundarios y aparecer ampliamente distribuidas en todo el organismo, incluso las secreciones mucosas.

En época reciente se incrementó el interés en la colectina conglutinina, al demostrarse, en primer lugar, que se encuentra en seres humanos, no sólo en vacunos, y en segundo lugar, que se puede fijar a *N*-acetilglucosamina por ser polivalente, esto implica una capacidad para recubrir las bacterias con C3b mediante enlaces cruzados entre el resto de azúcar disponible en el fragmento del complemento y el proteoglucano bacteriano. Si bien no se sabe con certeza si la conglutinina es miembro de la familia de proteínas de fase aguda, se la menciona aquí pues refuerza el concepto general de que la evolución de las moléculas símil lectina, que se fijan a los polisacáridos microbianos en lugar de los propios y que luego se vinculan al sistema del complemento o a las células fagocíticas, es una forma útil y probada de protección del huésped (fig. 1-18).

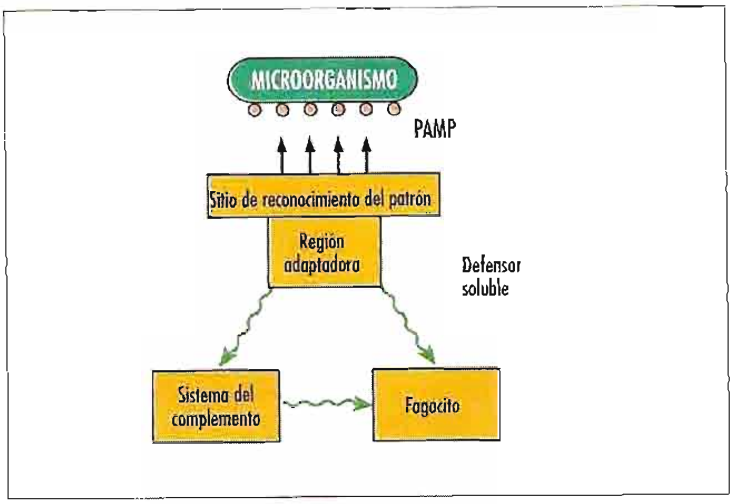


Fig. 1-18. Importante estrategia defensiva mediante factores solubles. Los elementos de reconocimiento unen los microroganismos a un sistema antimicrobiano a través de la región adaptadora. PAMP, patrón molecular asociado a patógeno.

Los interferones inhiben la replicación viral

Los interferones son una familia de agentes antivirales de amplio espectro, presentes en aves, reptiles y peces, además de animales superiores. Fueron descubiertos por el fenómeno de interferencia viral en el que un animal infectado por un virus resiste la sobreinfección por un segundo virus no relacionado. Se han identificado distintas formas moleculares de interferones, todos clonados por genes. Existen por lo menos 14 interferones alfa (IFNα) producidos por leucocitos, mientras que los fibroblastos, y posiblemente todos los tipos celulares, sintetizan IFNβ. Por ahora no se comentará un tercer tipo (IFNγ) no inducido directamente por virus.

Cuando las células son infectadas por un virus sintetizan interferón y lo secretan al líquido extracelular, donde se fija a receptores específicos sobre células vecinas no infectadas. El interferón fijado ejerce su efecto antiviral de la siguiente manera: se piensa que en la célula tratada con interferón por lo menos se desreprimen dos genes, lo que permite la síntesis de dos enzimas nuevas. Una es una proteincinasa que cataliza la fosforilación de una proteína ribosómica y de un factor de iniciación necesario para la síntesis proteica, por lo que disminuye mucho la traducción de mRNA. La otra cataliza la formación de un polímero más corto de ácido adenílico, que activa una endonucleasa latente; a su vez, ésta degrada los mRNA virales y del huésped.

Cualquiera fuere, en última instancia, el mecanismo de acción exacto, el resultado neto es la creación de un cordón de células no infectables alrededor del sitio de infección viral, lo que restrinje su diseminación. La efectividad del interferón in vivo se puede inferir de experimentos en ratones en los que se inyectó un antisuero contra interferón murino, tras lo cual se observó que morían con dosis de virus varios cientos de veces inferiores a las necesarias para matar los controles. Cabe suponer que el interferón desempeña un papel significativo en la recuperación de infecciones por virus, a diferencia de su prevención.

Como grupo, los interferones podrían desempeñar un papel biológico más amplio que el control de la infección viral. Por ejemplo, parece obvio que las enzimas inducidas antes descritas podrían actuar como inhibidores de la división de las células del huésped con la misma eficacia que en la replicación viral. Los interferones también podrían modular la actividad de otras células, por ejemplo las natural killer que se verán en la próxima sección.

MUERTE EXTRACELULAR

Células natural killer (NK)

Los virus carecen de los aparatos necesarios para la autorrenovación, por lo que les es esencial penetrar en las células del huésped infectado con el fin de tomar a su cargo su maquinaria de replicación. Es obvio que al huésped le interesa encontrar una forma de eliminar estas células infectadas antes de que el virus tenga la oportunidad de reproducirse. Las células NK parecen cumplir esta función, al menos in vitro.

Estas células son grandes linfocitos granulares (fig. 2-6a) con morfología característica (fig. 2-7b). Las células killer y blanco se enfrentan (fig. 1-19a) previo reconocimiento –a cargo de receptores del tipo de las lectinas (es decir, uniones a través de hidratos de carbono) y de otros tipos sobre la célula NK (véase pág. 77)– de estructuras sobre glucoproteínas de alto peso molecular ubicadas en la superficie de células infectadas por virus. La activación de la célula NK inicia la polarización de los gránulos, ubicados entre el núcleo y el blanco, en pocos minutos, y la liberación de sus contenidos hacia el espacio intercelular, a lo que sigue la muerte de la célula blanco.

Uno de los componentes más importantes de los gránulos es una **perforina** o citolisina, de cierta homología estructural con C9; al igual que esa proteína, pero sin otra ayuda que la del Ca^{2+}, es capaz de insertarse en la membrana del blanco, en apariencia por unión a fosforilcolina, a través del dominio anfipático central. Luego se polimeriza para formar un poro transmembrana de una estructura anular comparable al complejo de ataque de membrana del complemento (fig. 1-19a).

Las células blanco reciben la orden de suicidarse

Mientras que la lisis celular inducida por C9 tiene lugar por daño inferido a las membranas externas, seguido después por cambios nucleares, las células NK destruyen por activación de la **apoptosis** (muerte celular programada), un mecanismo presente en todas las células que lleva a la autoinmolación. La apoptosis es mediada por una cascada de enzimas proteolíticas denominadas **caspasas**. Al igual que otras cascadas con múltiples componentes, como los sistemas de la coagulación y del complemento, depende de la activación por clivaje proteolítico de una proenzima que le sigue en la cadena, y así suce-

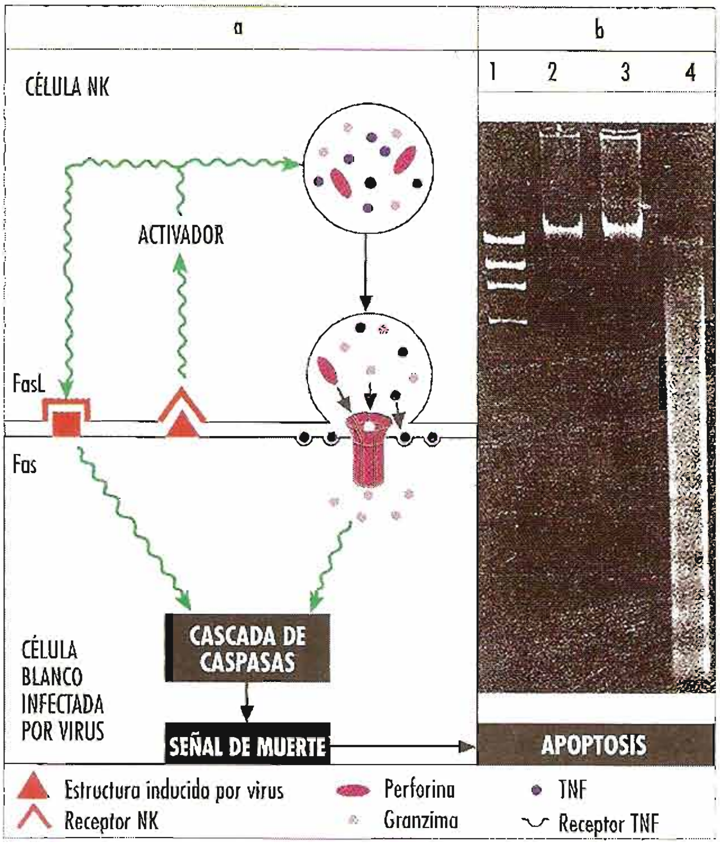


Fig. 1-19. Destrucción extracelular, de una célula infectada por virus, por una célula natural killer (NK). a) La fijación de los receptores NK a la superficie de la célula infectada por virus produce la liberación extracelular de moléculas de perforina por los gránulos; éstos se polimerizan para formar canales transmembrana que pueden facilitar la lisis del blanco, al permitir el ingreso de granzimas que inducen la muerte celular por apoptosis mediante la activación de la cascada de proteasas caspasas y la fragmentación posterior del DNA nuclear. [Modelo similar al propuesto por Hudig D, Ewoldt GR & Woodward SL (1993) *Current Opinion in Immunology* 5, 90]. Otro componente de los gránulos, el TNF, activa la apoptosis dependiente de caspasa a través de los "dominios de muerte" de los receptores de TNF de la superficie de la célula blanco. La ocupación del receptor NK también activa un mecanismo de destrucción paralelo, mediado por la fijación del ligando Fas (FasL) sobre el efector del receptor Fas de la célula blanco, cuyos dominios citoplasmáticos de muerte activan la procaspasa 8. **b)** Fragmentación del DNA del nucleosoma en fragmentos "en escalera" de 200 kb tras la muerte celular programada (Cedido por gentileza del profesor S. Martin). Banda 1: estándares obtenidos por digestión de DNA λ por *Hind*III; bandas 2 y 3: DNA no degradado de células control normales; banda 4: degradación característica de DNA de las células apoptóticas. Dado que en cada célula existe este mecanismo fundamental "predeterminado", es esencial que esté muy bien regulado; en consecuencia, un gran grupo de proteínas reguladoras, la subfamilia Bcl-2, inhibe la apoptosis, mientras que las subfamilias Bax y BH3 la favorecen. En griego antiguo la palabra "apoptosis" describe la caída de las hojas de los árboles o de los pétalos de las flores, e ilustra muy bien la apoptosis de las células cuando se desprenden de sus estructuras de sostén en la matriz extracelular. (Véase en la fig. 12-7 el aspecto morfológico de las células apoptósicas.)

sivamente. La secuencia termina con una fragmentación nuclear muy rápida, llevada a cabo por una endonucleasa dependiente de Ca que actúa sobre el DNA vulnerable ubicado entre nucleosomas, para producir los fragmentos "en escalera de nucleosomas" de 200 kb (fig. 1-19b); sólo después se puede detectar la liberación de proteínas citoplasmáticas marcadas con ^{51}Cr a través de membranas de la superficie celular defectuosas. Estos cambios nucleares no son producidos por C9. En consecuencia, si bien la perforina y C9 parecen producir "poros" de membrana comparables, hay una notable diferencia entre sus mecanismos destructivos.

Además de la perforina, los gránulos contienen factor de necrosis tumoral alfa (TNFα), **linfotoxina** β y una familia de proteasas de serina denominadas **granzimas,** una de las cuales, la granzima B, puede actuar como un factor citotóxico NK al pasar a través del poro de membrana de perforina hasta el citoplasma, donde cliva la procaspasa 8 y activa el proceso de apoptosis. El factor de necrosis tumoral puede inducir la muerte celular por apoptosis, al reaccionar con los receptores TNF de superficie celular cuyos dominios citoplasmáticos de muerte también pueden activar la procaspasa 8. El condroitinsulfato A es un proteoglucano con fuerte carga negativa, resistente a proteasas, que se encuentra en los gránulos y puede intervenir en la protección de la célula NK contra la autólisis debida a sus propios agentes letales.

La destrucción por células NK también puede tener lugar en ratones con deficiencia de perforina, posiblemente debida a un mecanismo paralelo en el que intervienen moléculas del receptor **Fas** sobre la superficie de la célula blanco. La ocupación del receptor Fas por el **ligando Fas (FasL)** sobre la célula efectora proporciona otra vía para la inducción de una señal apoptótica en la desgraciada célula blanco.

Los diversos interferones aumentan la citotoxicidad NK y dado que son producidos por las células infectadas por virus, se forma un bien integrado sistema de defensa por retroalimentación.

Eosinófilos

Los parásitos de gran tamaño, como los helmintos, no pueden ser fagocitados físicamente. La destrucción extracelular, a cargo de los eosinófilos, parece haber evolucionado para contribuir a solucionar este problema. Estos polimorfonucleares "primos" de los neutrófilos poseen gránulos bien diferenciados, que se tiñen muy bien con colorantes ácidos (fig. 1-4c) y presentan un aspecto característico en el microscopio electrónico (fig. 13-22). Una proteína básica importante se localiza en el centro del gránulo, mientras que en la matriz del gránulo se ha identificado una proteína catiónica eosinófila y una peroxidasa. También se encuentran otras enzimas, como arilsulfatasa B, fosfolipasa D e histaminasa, que tienen receptores de superficie para C3b y ante la activación producen un estallido respiratorio muy impresionante, con generación simultánea de metabolitos de oxígeno activos. No satisfecha con esto, la naturaleza también armó la célula con proteínas granulares capaces de producir en ella un tapón transmembrana, de modo similar a C9 y la perforina de NK.

La mayoría de los helmintos puede activar la vía alternativa del complemento, pero si bien la cubierta de C3b es resistente al ataque de C9, permite la adhesión de eosinófilos a través de sus receptores C3b. Si este contacto llevara a la activación, el eosinófilo lanzaría su ataque extracelular, que incluye la liberación de las principales proteínas básicas y, en especial, la proteína catiónica que daña la membrana del parásito.

RESUMEN

Hay una amplia variedad de mecanismos inmunes innatos que no mejoran con la exposición repetida a la infección.

Barreras contra la infección

- La piel, la secreción de moco, la acción de las cilias, la acción lavadora de líquidos antimicrobianos (p.ej., lágrimas), el ácido gástrico y el antagonismo microbiano mantienen fuera del cuerpo a los microorganismos.
- Si se produce la penetración, las bacterias son destruidas por factores solubles como la lisozima y por fagocitosis con digestión intracelular.

Las células fagocíticas destruyen microorganismos

- Las principales células fagocíticas son los neutrófilos polimorfonucleares y los macrófagos.
- Las células fagocíticas usan sus receptores de reconocimiento de patrón (PRR) para reconocer patrones moleculares asociados con patógenos

(PAMP), a los que se adhieren sobre la superficie del microorganismo.

- Los microorganismos que se adhieren a la superficie del fagocito activan el proceso de endocitosis y son internalizados por la célula, tras lo cual se fusionan con gránulos citoplasmáticos.
- Entonces actúa un gran conjunto de mecanismos antimicrobianos: la conversión de O_2 a intermediarios reactivos del oxígeno, la síntesis de óxido nítrico y la liberación de múltiples factores independientes del oxígeno desde los gránulos.

El complemento facilita la fagocitosis

- El sistema del complemento es una cascada de enzimas, desencadenada por múltiples componentes, que se utiliza para atraer células fagocíticas hacia los microorganismos e internalizarlos.
- El componente más abundante, C3, es clivado por una enzima convertasa formada a partir de su producto de clivaje C3b y factor B, y estabilizado contra la degradación causada por los factores H e I, por asociación con la superficie microbiana. A medida que se produce, el C3b forma enlaces covalentes con el microorganismo.
- El próximo componente, C5, se activa y produce un péptido pequeño, C5a; el C5b residual se fija a la superficie y ensambla los componentes terminales C6-9 en un complejo de ataque de membrana que es muy permeable a solutos y puede causar lisis por ósmosis.
- C5a es un poderoso agente quimiotáctico para neutrófilos que además incrementa en alto grado la permeabilidad capilar.
- C3a y C5a actúan sobre los mastocitos e inducen la liberación de otros mediadores, como histamina, leucotrieno B_4 y factor de necrosis tumoral (TNF), que actúen sobre la permeabilidad y la adhesión de los capilares, como también sobre la quimiotaxis de los neutrófilos, a los que también activan.

La reacción inflamatoria aguda mediada por complemento

- Tras la activación del complemento y con la consiguiente atracción y estimulación de los neutrófilos, los fagocitos activados se fijan a los microorganismos recubiertos por C3b, a través de los receptores C3b de superficie, y luego los pueden ingerir. El ingreso de polimorfonucleares y el incremento de la permeabilidad vascular constituyen la poderosa **respuesta inflamatoria aguda** (fig. 2-18).
- La inflamación también puede iniciarse por los macrófagos tisulares, con función similar a los mastocitos, dado que la reacción ante las toxinas bacterianas generadas por bacterias recubiertas por C5a o iC3b, adheridos a los receptores del complemento superficiales, induce la liberación de factores quimiotácticos y activadores de neutrófilos.

Los mecanismos humorales proporcionan una segunda estrategia defensiva

- Además de la lisozima, las defensinas peptídicas y el sistema del complemento, otras defensas humorales incluyen las proteínas de fase aguda, tales como por ejemplo la proteína C reactiva y la proteína fijadora de manosa, cuya síntesis está muy aumentada en la infección. La proteína fijadora de manosa pertenece a la familia de colectinas, que también incluye la conglutinina y los agentes surfactantes SP-A y SP-D, con notable capacidad para distinguir entre grupos de hidratos de carbono microbianos y "propios" mediante sus moléculas de reconocimiento de patrones.
- Se puede lograr la recuperación de las infecciones virales mediante interferón, que bloquea la replicación del virus.

Muerte extracelular

- Las células infectadas por virus pueden ser destruidas por grandes linfocitos granulares con actividad NK, a través de una vía de perforinas/granzimas y de un mecanismo en el que interviene el receptor Fas. Estos linfocitos inducen la muerte celular programada (apoptosis) mediada por la activación de la cascada de proteasas caspasas que fragmentan el DNA nuclear.
- La destrucción extracelular por eosinófilos unidos a C3b sería responsable de que muchos parásitos grandes no puedan establecerse en huéspedes potenciales.

Véanse preguntas de opciones múltiples en el sitio web correspondiente (www.roitt.com).

CAPÍTULO 2

Inmunidad adquirida específica

www.el12cirujano.blogspot.com/

Introducción, 23
Anticuerpo, el adaptador específico, 23
  El anticuerpo inicia una nueva vía del complemento ("clásica"), 23
  Los complejos de anticuerpos activan las células fagocíticas, 25
Base celular de la producción de anticuerpos, 26
  Los anticuerpos son elaborados por los linfocitos, 26
  El antígeno selecciona los linfocitos que elaboran anticuerpos, 27
  La necesidad de expansión clonal implica que se debe adquirir inmunidad humoral, 28
Memoria adquirida, 29
  Las respuestas secundarias de anticuerpos son mejores, 29
La inmunidad adquirida tiene especificidad de antígeno, 32
  Discriminación entre distintos antígenos, 32
  Discriminación entre lo propio y lo no propio, 32
La vacunación depende de la memoria adquirida, 33
La inmunidad celular protege contra microorganismos intracelulares, 33
  Las células T productoras de citocinas contribuyen para que los macrófagos destruyan parásitos intracelulares, 34
  Las células infectadas por virus pueden ser eliminadas por células T citotóxicas y CCDA, 34
Inmunopatología, 35
Resumen, 36
Lecturas sugeridas, 38

INTRODUCCIÓN

Nuestros adversarios microbianos poseen oportunidades notables para desarrollar estrategias, por medio de mutaciones, que les permitan evadir nuestras defensas inmunitarias innatas. Por ejemplo, la mayoría de los parásitos *exitosos* activan la vía alternativa del complemento y se fijan a C3b, pero los eosinófilos que se adhieren por alguna razón no desencadenan una acción ofensiva. Lo mismo ocurre con muchas bacterias, mientras que algunas conforman su estructura exterior para evitar la activación del complemento. Es obvio que el organismo necesita diseñar mecanismos de defensa dirigidos individualmente contra cada uno de estos microorganismos, sin considerar su número. En otras palabras, el cuerpo necesita tener a su disposición una *cantidad muy importante* de **defensas inmunitarias específicas**, lo que representa todo un desafío.

ANTICUERPO, EL ADAPTADOR ESPECÍFICO

Los procesos evolutivos generaron lo que se puede describir como una solución brillante, esto es, diseñaron una molécula adaptadora con capacidad intrínseca para activar el sistema del complemento y estimular las células fagocíticas, además de adherirse al microorganismo agresor. Así, el adaptador contiene tres regiones principales, dos que se comunican con el complemento y los fagocitos (funciones biológicas), y una que se fija a un microorganismo en particular (función de reconocimiento externo). En la mayoría de los sistemas biológicos, como las hormonas y los receptores, y las enzimas y los sustratos, por lo general el reconocimiento tiene lugar por medio de una complementariedad morfológica bastante exacta, y los ligandos se pueden acercar lo suficiente como para permitir que las fuerzas intermoleculares normales sean bastante fuertes. En este caso, cada adaptador posee una porción de reconocimiento complementaria en su forma con algún microorganismo con el que se puede unir mediante enlaces razonablemente firmes. La parte del adaptador con función biológica es constante, pero para cada uno de los cientos de miles de microorganismos diferentes se requiere una porción de reconocimiento especial.

En consecuencia, el cuerpo debe elaborar cientos de miles, o incluso millones, de **adaptadores con distintos sitios de reconocimiento**; el adaptador es la molécula denominada con afecto **anticuerpo** (fig. 2-1).

El anticuerpo inicia una nueva vía del complemento ("clásica")

Cuando se une al microorganismo, el anticuerpo se fija a la primera molécula de la denominada **se-**

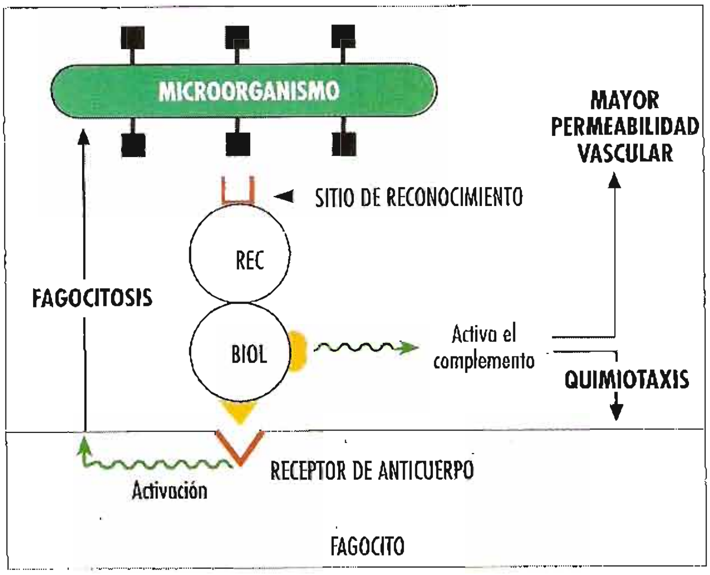

MICROORGANISMO
MAYOR PERMEABILIDAD VASCULAR
SITIO DE RECONOCIMIENTO
REC
FAGOCITOSIS
BIOL
Activa el complemento
QUIMIOTAXIS
RECEPTOR DE ANTICUERPO
Activación
FAGOCITO

Fig. 2-1. La molécula adaptadora de anticuerpo. La parte constante con función biológica (BIOL) activa el complemento y el fagocito. La porción con la unidad de reconocimiento para el microorganismo extraño (REC) varía de un anticuerpo a otro.

Fig. 2-3. Comparación de las vías alternativa y clásica del complemento. La vía clásica es activada por el anticuerpo, cosa que no ocurre con la vía alternativa. Se destacan las unidades moleculares con actividad de proteasa, donde los dominios enzimáticos muestran considerable homología. Es importante no confundir la nomenclatura empleada; el fragmento más grande C2 que forma la C3 convertasa se denomina C2a, pero para ser consecuente con C4b, C3b y C5b hubiera sido más lógico denominarlo C2b. Nótese que al fijarse a la fosforilcolina microbiana, la proteína C reactiva (pág. 17) puede iniciar la vía clásica. Cuando la lectina fijadora de manosa se combina con los hidratos de carbono de la superficie microbiana, se asocia con las serinaproteasas MASP-1 y MASP-2 (pág. 17), que activan la vía clásica; bajo estas condiciones, MASP-1 cliva C3 en forma directa y MASP-2 escinde C4 y C2.

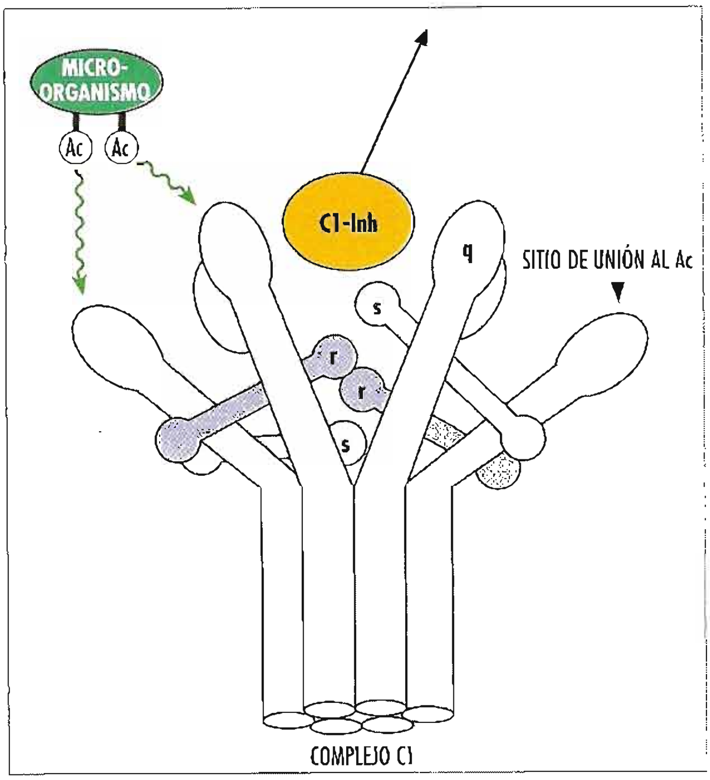
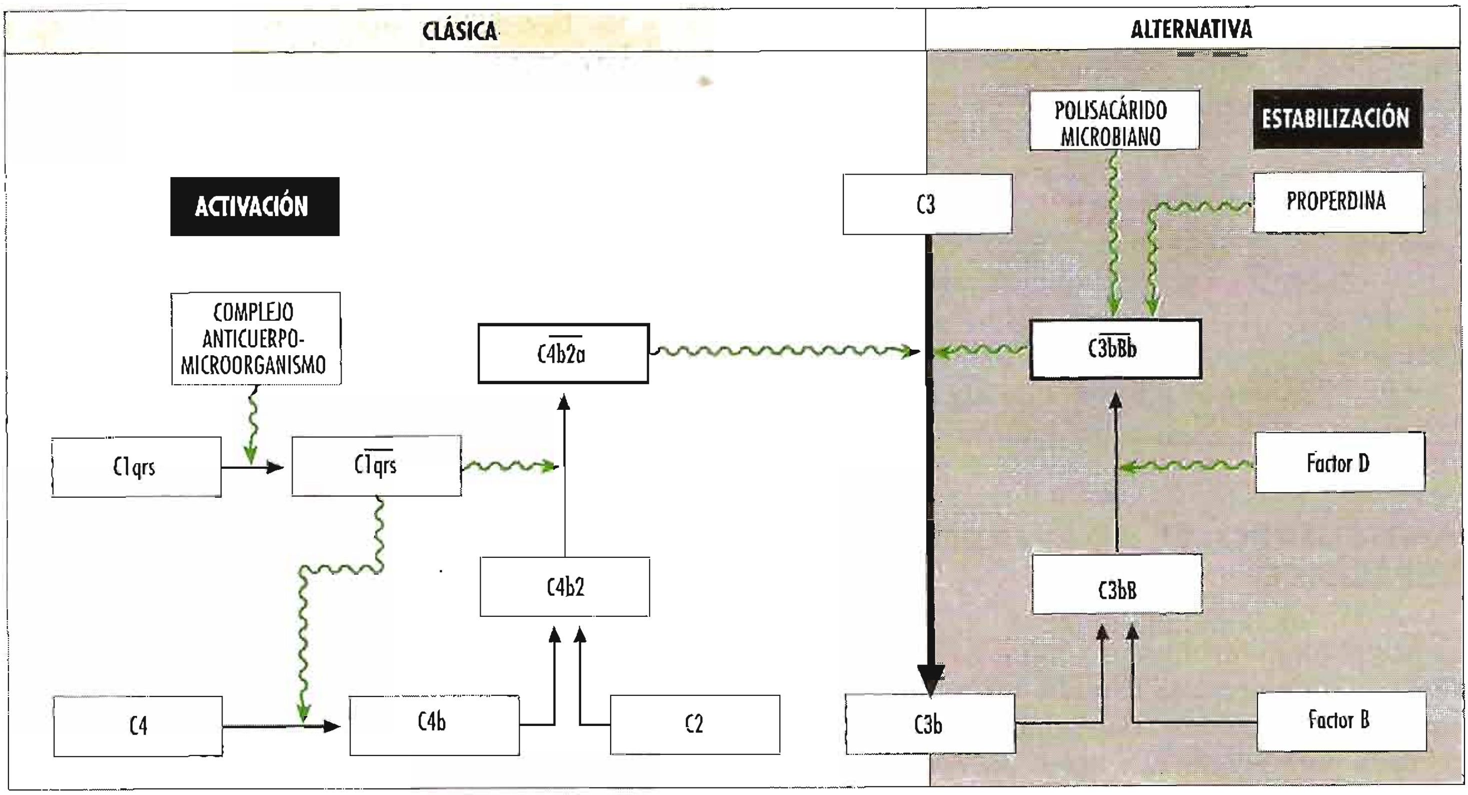

MICRO-ORGANISMO
Ac
Ac
C1-Inh
q
SITIO DE UNIÓN AL Ac
s
r
r
s
COMPLEJO C1

Fig. 2-2. Activación de la vía clásica del complemento. C1 se compone de C1q, asociado con el complejo dependiente de Ca flexible y con forma de bastón $C1r_2$-$C1s_2$ ⓢ═○ ○═ⓡⓡ═○ ○═ⓢ ; s y r indican posibles sitios activos de serina proteasa), que se interdigita con los seis brazos de C1q en la forma indicada o bajo formas en "W" sobre la cara externa de estos brazos. Por lo general, el inhibidor de C1 impide la activación espontánea de $C1r_2$-$C1s_2$. Si el complejo formado por un microorganismo o un antígeno y los anticuerpos se fija a dos o más de los sitios globulares fijadores de Ac de C1q, es posible que la molécula sufra un cambio de conformación que libere C1-Inh y active $C1r_2$-$C1s_2$.


CLÁSICA
ALTERNATIVA
ACTIVACIÓN
COMPLEJO ANTICUERPO-MICROORGANISMO
C1qrs
$\overline{\mathrm{C1}}\mathrm{qrs}$
$\mathrm{C}\overline{\mathrm{4b2a}}$
C4b2
C4
C4b
C2
C3
POLISACÁRIDO MICROBIANO
ESTABILIZACIÓN
PROPERDINA
$\mathrm{C}\overline{\mathrm{3bBb}}$
Factor D
C3bB
C3b
Factor B

cuencia clásica del complemento, C1q, e inicia la actividad proteolítica latente del complejo C1 (fig. 2-2) que luego desempeña su función en la cascada de amplificación al actuar sobre los componentes C4 y C2 y generar muchas moléculas de **C$\overline{4b2a}$**, que es una nueva **enzima escindidora de C3** (fig. 2-3).

Los procesos moleculares responsables de esta vía parecen sencillos. C1q es polivalente respecto de la fijación del anticuerpo y presenta un tallo central similar al colágeno que se ramifica en seis cadenas peptídicas, cada una de las cuales presenta en su extremo una subunidad fijadora de anticuerpo (similar a los pimpollos de un ramillete de flores). C1q se asocia con otras dos subunidades, C1r y C1s, para formar un complejo trimolecular estabilizado por Ca^{2+} (fig. 2-2). Estas dos moléculas contienen repeticiones de una unidad de 60 aminoácidos plegadas como un dominio globular, que se denomina proteína repetida de control del complemento (CCP), dado que es una propiedad estructural característica de varias proteínas que intervienen en el control del sistema del complemento. Los cambios de C1q producidos tras la fijación del complejo antígeno-anticuerpo inducen la activación en secuencia de la actividad proteolítica en C1r y luego en C1s.

El próximo componente de la cadena, C4 (es de lamentar que los componentes se numeraran antes de establecer la secuencia), ahora se fija a C1 por medio de esas CCP, y es clivado de manera enzimática por acción de C$\overline{1s}$. Como es de esperar en una cascada de numerosas enzimas, varias moléculas de C4 sufren clivaje, y cada una de ellas libera un pequeño fragmento C4a y revela un enlace tioléster interno lábil naciente en el C$\overline{4b}$ residual similar al de C3 (véase fig 1-11), que luego se puede unir al complejo anticuerpo-C1 o a la superficie del microorganismo. Nótese que C4a, al igual que C5a y C3a, tiene actividad de anafilatoxina, aunque leve, y C$\overline{4b}$ se asemeja a C3b en cuanto a actividad de opsonina. En presencia de Mg^{2+}, C2 puede formar un complejo con el C$\overline{4b}$ y transformarse en nuevo sustrato para el C$\overline{1s}$; el producto obtenido C$\overline{4b2a}$ posee ahora la vital actividad de C3 convertasa requerida para clivar C3.

La vía clásica de C3 convertasa presenta la misma especificidad que el C$\overline{3bBb}$ generado por la vía alternativa, y produce los mismos fragmentos C3a y C3b. La activación de un solo complejo C1 puede inducir la proteólisis de miles de moléculas de C3. A partir de entonces prosigue la secuencia de igual modo que en la vía posterior a C3, donde se agrega una molécula de C3b al C$\overline{4b2a}$ para transformarlo en una enzima escindidora de C5 y por último genera el **complejo de ataque de membrana** (figs. 1-13 y 2-4). Así como la vía alternativa de la C3 convertasa es controlada por los factores H e I, la degradación de C4b2a es inducida por una proteína fijadora de C4 (C4bp) o un receptor C3b de superficie celular (CR1) en presencia de factor 1.

Las similitudes entre las dos vías se presentan en la figura 2-3, que muestra cómo el anticuerpo puede complementar e incluso mejorar la actividad del sistema inmune innato para iniciar las **reacciones inflamatorias agudas**. El anticuerpo proporciona un beneficio ulterior en este aspecto; la clase denominada inmunoglobulina E (véase epígrafe de la fig. 2-4) puede sensibilizar los mastocitos al fijarse a sus superficies, por lo que la combinación con el antígeno desencadena la liberación de mediador con independencia de C3a o C5a, lo que agrega mayor flexibilidad a las defensas del organismo.

Los complejos de anticuerpos activan las células fagocíticas

Antes se destacó que algunos microorganismos recubiertos por C3b se pueden adherir a las células

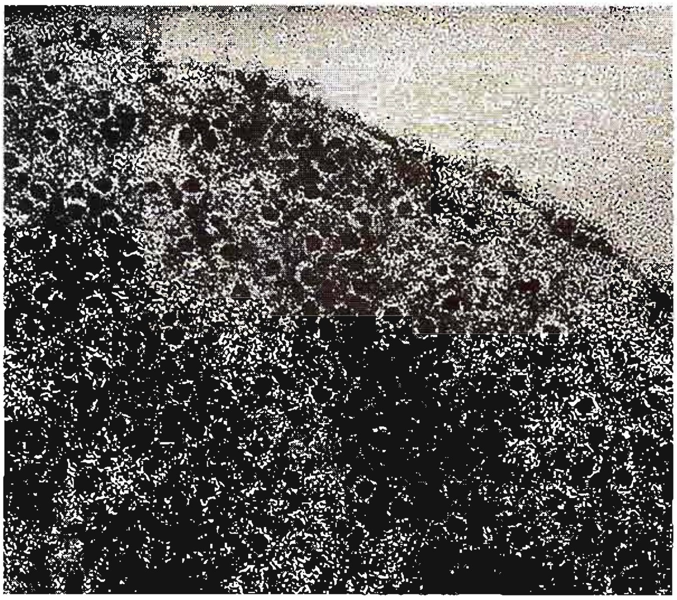


Fig. 2-4. Numerosas lesiones en la pared celular de una bacteria *Escherichia coli* causadas por la interacción con anticuerpos IgM y el complemento. [Los anticuerpos humanos se dividen en cinco clases principales: inmunoglobulina M (abreviada IgM), IgG, IgA, IgE e IgD, que difieren en la especialización de sus "extremos posteriores" para distintas funciones biológicas, como la activación del complemento o la sensibilización de mastocitos.] Cada lesión es producida por una sola molécula de IgM y se presenta como una "fosita oscura" debida a la penetración del "colorante de contraste". En realidad se trata de una ilusión, pues estas "fositas" son como cráteres volcánicos que se yerguen orgullosos en la superficie, y cada uno es un complejo de "ataque de membrana". Se pueden lograr resultados comparables en ausencia de anticuerpo, dado que la endotoxina de la pared celular puede activar la vía alternativa en presencia de una mayor concentración de suero (× 400.000). (Gentileza de R. Dourmashkin y J.H. Humphrey.)

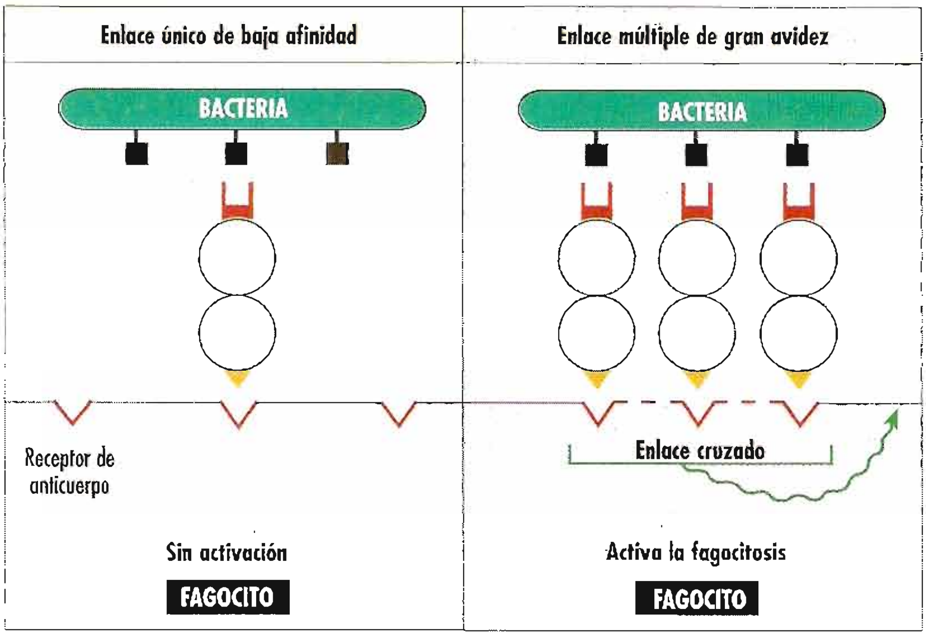


Fig. 2-5. La fijación de la bacteria al fagocito por medio de numerosos anticuerpos crea fuerzas intensas de asociación y desencadena la fagocitosis al formar enlaces cruzados con los receptores superficiales para los anticuerpos.

fagocíticas y aun así no provocar su captación. Si se agregan pequeñas cantidades de anticuerpo se estimula la acción del fagocito, por reconocimiento de dos o más moléculas de anticuerpo fijadas al microorganismo a través de receptores especializados de la superficie celular.

No es suficiente una sola molécula de anticuerpo que forma un complejo con el microorganismo, dado que no alcanza a producir el entrecruzamiento de los receptores de anticuerpo en la membrana de superficie del fagocito requerido para activar la célula. Intervienen otras cuestiones en lo que se suele denominar **efecto de bonificación de la multivalencia**; por razones termodinámicas que se analizarán en el capítulo 5, la asociación constante de ligandos, que utiliza varios enlaces en lugar de sólo uno para reaccionar con los receptores, presenta un incremento geométrico en lugar de aritmético. Por ejemplo, tres anticuerpos fijados muy cerca entre sí sobre una bacteria serán atraídos por un macrófago con una fuerza mil veces mayor que una sola molécula de anticuerpo (fig. 2-5).

BASE CELULAR DE LA PRODUCCIÓN DE ANTICUERPOS

Los anticueros son elaborados por los linfocitos

La mayoría de los **linfocitos** en reposo son células pequeñas con núcleo muy teñido debido a la cromatina condensada, y relativamente escaso citoplasma que contiene la mitocondria requerida para la provisión básica de energía. En las figuras 2-6 y 2-7 se compara la morfología de estas células con la de la población minoritaria de **linfocitos grandes granulares**, entre los que se incluye el grupo de células natural killer (NK) mencionadas en el capítulo 1.

Los trabajos de Gowans establecieron en gran medida el papel central del **linfocito pequeño** en la producción de anticuerpos. Este autor indujo la depleción de linfocitos en ratas mediante el drenaje crónico de linfa a través de una cánula residente en el conducto torácico, y demostró que los animales presentaban un deterioro notable la capacidad de montar una respuesta de anticuerpos frente al ataque microbiano. Esta capacidad se podía restablecer mediante la inyección de linfocitos obtenidos del conducto torácico de otra rata. Se lograba el mismo efecto si se incubaban las células del conducto torácico a 37°C durante 24 horas bajo condiciones que eliminaban las células de tamaño grande y mediano, y sólo dejaban los linfocitos pequeños. Así se demuestra que el linfocito pequeño es necesario para la **respuesta de anticuerpos**.

Es posible marcar los linfocitos pequeños mediante la inyección previa de timidina tritiada a la rata donante, y así seguir el destino de estos linfocitos cuando se los transfiere a otra rata de la misma cepa, a la que se le inyectan microorganismos para obtener una respuesta de anticuerpos (fig. 2-8). Se deduce que tras el contacto con los microorganismos inyectados, parte de los linfocitos marcados transferidos se desarrollan como **células plasmáticas** (plasmocitos) (figs. 2-6d y 2-9), que según se demostró, contienen (fig. 2-6e) y secretan anticuerpos.

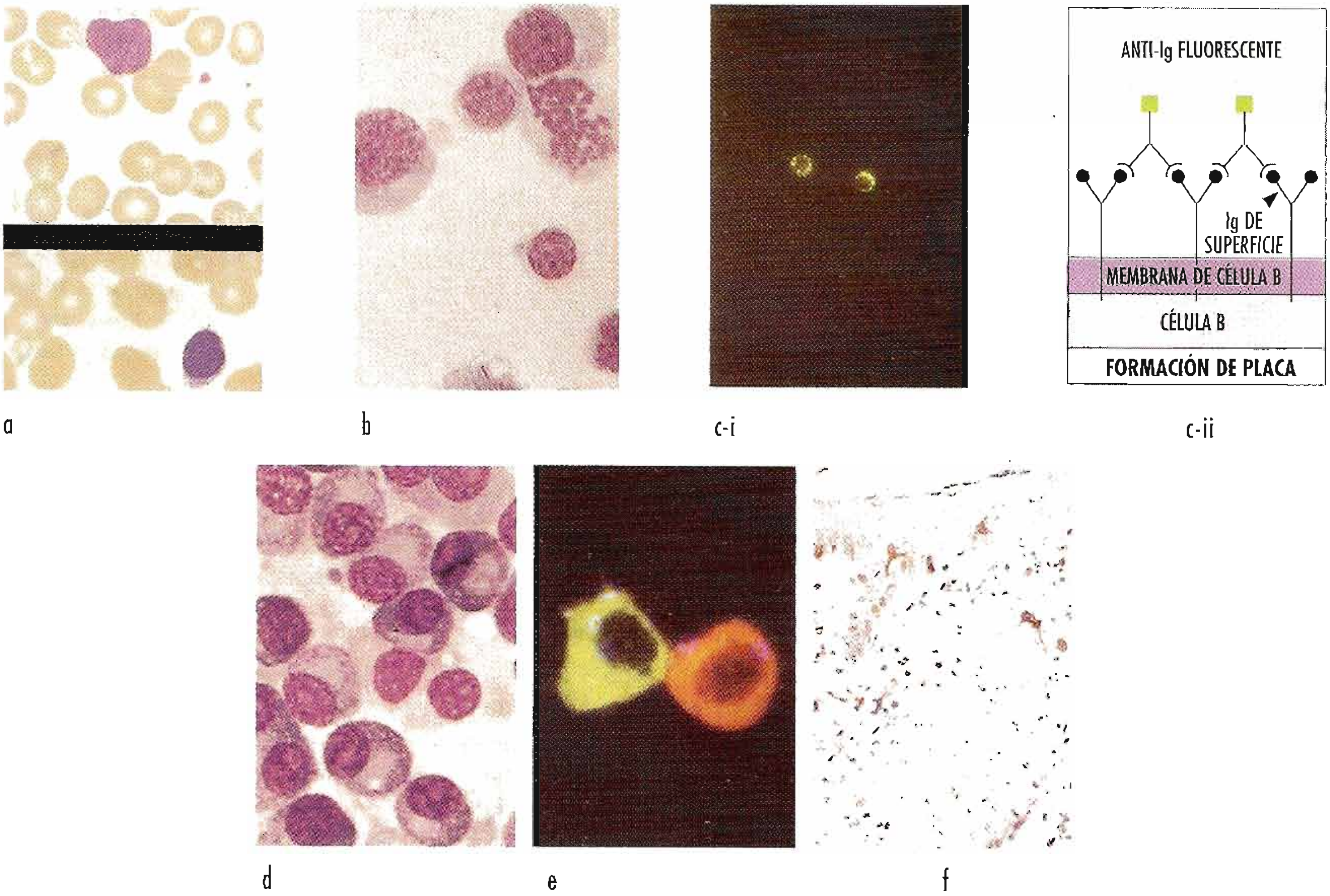
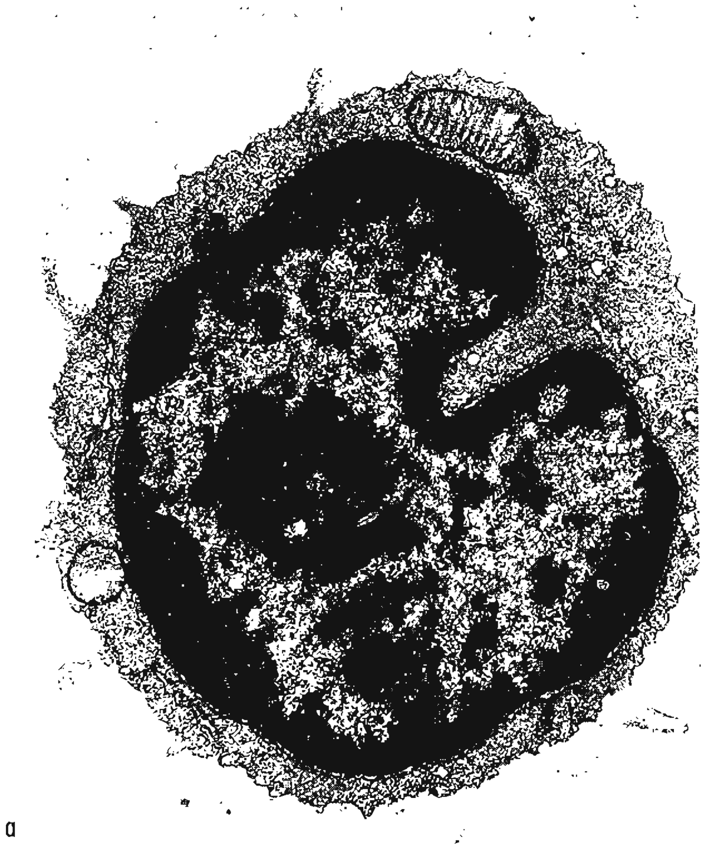


Fig. 2-6. **Células que intervienen en la respuesta inmune adquirida.** **a)** Linfocitos pequeños. La intensa coloración del núcleo se debe a la cromatina condensada. La célula de la parte inferior es una típica célula T agranular en reposo, con escaso reborde de citoplasma. La célula nucleada de la parte superior es un linfocito grande granular; tiene más citoplasma y son evidentes los gránulos azurófilos. Se distinguen algunas plaquetas. Los linfocitos B varían en tamaño desde pequeños a intermedios, y carecen de gránulos. Tinción de Giemsa. **b)** Linfocitos T transformados (linfoblastos) tras la estimulación de los linfocitos en cultivo mediante un activador policlonal, como las lectinas fitohemaglutinina, concanavalina A y mitógeno de fitolaca, que estimulan una amplia variedad de células, con independencia de su especificidad por el antígeno. Con su relación elevada citoplasma-núcleo, los linfoblastos grandes se pueden comparar en tamaño con el linfocito pequeño aislado. Una de las células está en mitosis. May-Grünwald-Giemsa. **c)** Tinción por inmunofluorescencia de la inmunoglobulina de superficie del linfocito B, mediante anti-Ig conjugada con fluoresceína (🟩). Si la reacción se lleva a cabo en frío para impedir la pinocitosis, el anticuerpo marcado no puede penetrar en el interior de los linfocitos viables y sólo reacciona con los componentes de superficie. Se distinguen placas agregadas de Ig de superficie que comienzan a formar un casquete en el linfocito de la derecha. Durante la formación del casquete, la miosina submembranosa se distribuye junto con la Ig de superficie e induce el movimiento de la célula, antes sésil, en dirección opuesta al casquete. **d)** Células plasmáticas. El núcleo es excéntrico y el citoplasma, muy basófilo debido al contenido elevado de RNA. La zona yuxtanuclear poco teñida corresponde a la región del Golgi. May-Grünwald-Giemsa. **e)** Células plasmáticas teñidas para mostrar la inmunoglobulina intracelular mediante una anti-Ig marcada con fluoresceína (verde) y una anti-IgM conjugada con rodamina (rojo). **f)** Células de Langerhans de epidermis humana en lepra, incrementadas en la zona subepidérmica, quizá como consecuencia del proceso patológico. Están teñidas con el método de inmunoperoxidasa con anticuerpos S-100. [El material para **a)** fue gentilmente provisto por el señor M. Watts del departamento de Hematología de Middlesex Hospital Medical School; **b)** y **c)** por el Profesor P. Lydyard; **d)** y **e)** por el Profesor C. Grossi; y **f)** por la doctora Marian Ridley.]

El antígeno selecciona los linfocitos que elaboran anticuerpos

Las moléculas de los microorganismos que evocan y reaccionan con los anticuerpos se denominan **antígenos** (**gen**eran **anti**cuerpos). En la actualidad se sabe que los anticuerpos se forman antes de que haya contacto alguno con el antígeno, y que éste los **selecciona**.

El proceso tiene lugar de la siguiente forma: cada linfocito de un subtipo denominado **linfocito B**, porque se diferencia en la *médula ósea* (del inglés *bone marrow*), está programado para elaborar sólo un anticuerpo, al que ubica sobre su superficie externa para actuar como receptor. Este receptor puede detectarse mediante sondas fluorescentes; en la figura 2-6c se observan las moléculas de anticuerpo sobre la superficie de un linfocito B hu-



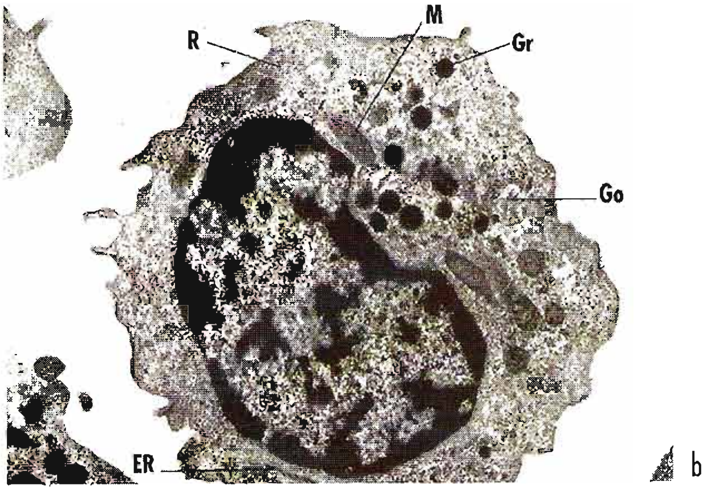


Fig. 2-7. Microfotografía de un linfocito. a) Linfocito T pequeño agranular. Núcleo indentado con cromatina condensada y citoplasma escaso: se observa la única mitocondria y muchos ribosomas, pero escasas otras organelas (× 13.000). En esencia, los linfocitos B son similares, con algo más de citoplasma y ocasionales elementos de retículo endoplasmático rugoso. **b)** Linfocito grande granular (× 7.500). El citoplasma más abundante contiene varias mitocondrias (M), ribosomas libres (R) con elementos menores de retículo endoplasmático rugoso (ER), un destacado aparato de Golgi (Go) y característicos gránulos electrondensos limitados por membrana (Gr). La cromatina nuclear es menos condensada que la de las células T agranulares. (Gentileza de los profesores A. Zicca y C.E. Grossi.)

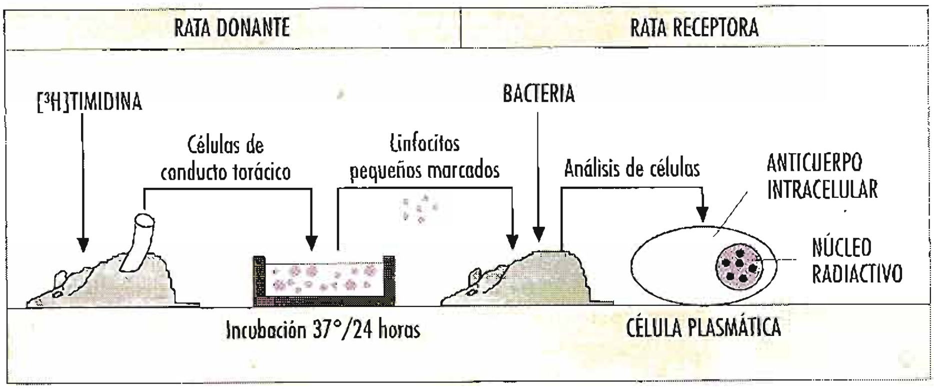


Fig. 2-8. Los linfocitos pequeños marcados se transforman en células plasmáticas elaboradoras de anticuerpo cuando se transfieren a una rata receptora inmunizada con una bacteria. La célula transferida con un núcleo radiactivo se muestra mediante autorradiografía. El anticuerpo intracelular se revela por medio de la tinción con sondas fluorescentes (véase fig. 2-6e).

mano teñido con un antisuero fluorescente de conejo producido contra una preparación de anticuerpos de seres humanos. Cada linfocito posee en su superficie moléculas idénticas de anticuerpo en el orden de 10^5.

Cuando un antígeno ingresa en el organismo se enfrenta con un deslumbrante conjunto de linfocitos, cada uno portador de un anticuerpo distinto y con su propio sitio de reconocimiento. El antígeno sólo se fija a los receptores con los que coincide en forma exacta. Los linfocitos cuyos receptores se unieron al antígeno reciben una señal desencadenante y se desarrollan como células plasmáticas formadoras de anticuerpo, y dado que los linfocitos están progamados para elaborar sólo un anticuerpo, el secretado por las células plasmáticas será idéntico al que actuó en principio como receptor del linfocito, es decir, se fijará bien al antígeno. Así, el antígeno selecciona los anticuerpos que lo reconocen con eficacia (fig. 2-10).

La necesidad de expansión clonal implica que se debe adquirir inmunidad humoral

Dado que se pueden elaborar cientos de miles, y quizás incluso millones de moléculas de anticuerpo

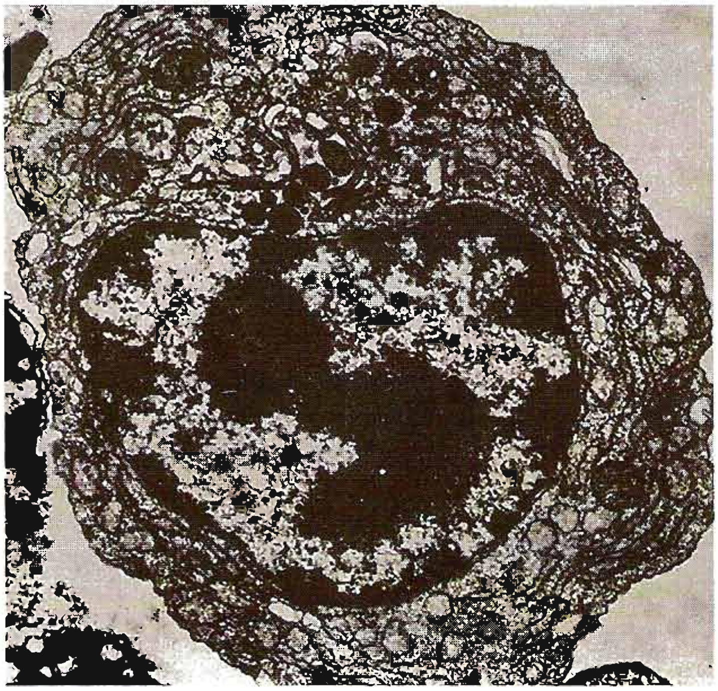


Fig. 2-9 Célula plasmática (× 10.000). Destacado retículo endoplasmático rugoso asociado con la síntesis y la secreción de Ig.

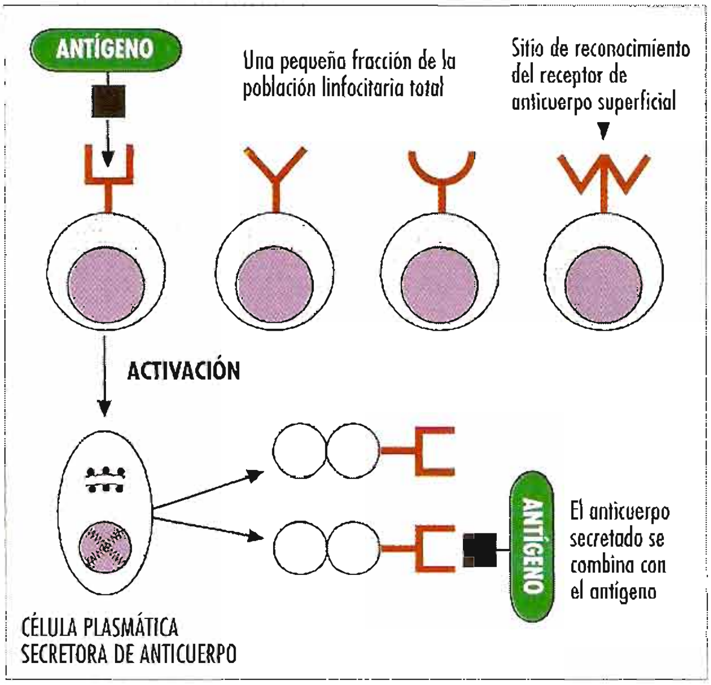

ANTÍGENO
Una pequeña fracción de la población linfocitaria total
Sitio de reconocimiento del receptor de anticuerpo superficial
ACTIVACIÓN
CÉLULA PLASMÁTICA SECRETORA DE ANTICUERPO
ANTÍGENO
El anticuerpo secretado se combina con el antígeno

Fig. 2-10. El antígeno activa las células B con cuyos anticuerpos receptores de superficie puede combinarse con firmeza.

diferentes, es imposible mantener muchos linfocitos productores de cada tipo de anticuerpo; no habría espacio suficiente en el organismo para albergarlos. En compensación, los linfocitos estimulados por contacto con el antígeno sufren ondas sucesivas de proliferación (fig. 2-6b) para formar un gran clon de células plasmáticas capaces de elaborar el tipo de anticuerpo para el que fue programado el linfocito original. Por medio de este sistema de **selección clonal** se pueden fabricar concentraciones de anticuerpo suficientes para combatir la infección con eficacia (hito 2-1; fig. 2-11).

La capacidad de los agentes antimitóticos para suprimir por completo la producción de anticuerpos ante determinado estímulo antigénico destaca la importancia de la proliferación para el desarrollo de una respuesta de anticuerpos significativa.

Dado que se requiere cierto tiempo para que un clon en proliferación alcance la cantidad suficiente de anticuerpo, por lo general transcurren varios días hasta detectarlo en suero, tras el contacto primario con el antígeno. Los anticuerpos recién formados son consecuencia de la exposición al antígeno, por lo que se habla de **respuesta inmune adquirida**.

MEMORIA ADQUIRIDA

Por definición, cuando se elabora una respuesta de anticuerpo contra un agente infeccioso dado el microorganismo debe estar presente en el medio y es probable que se vuelva a encontrar. Entonces tendría sentido que los mecanismos inmunes alertados por el primer contacto con el antígeno contaran con algún sistema de memoria que permitiera que las respuestas a cualquier exposición posterior fueran más rápidas y de mayor intensidad.

La experiencia con muchas infecciones comunes indica que debe ser así. Rara vez se presentan dos veces enfermedades como sarampión, paperas, varicela y tos ferina. Es obvio que el primer contacto imparte cierta información, cierta **memoria**, por lo que el organismo se prepara con eficacia para repeler cualquier invasión posterior por ese microorganismo y se establece un estado de inmunidad.

Las respuestas secundarias de anticuerpos son mejores

Al seguir la producción de anticuerpo en el primer y segundo contacto con el antígeno se descubre la base del desarrollo de la inmunidad. Así, cuando en un conejo se inyecta un producto bacteriano, por ejemplo, toxoide tetánico, por las razones ya explicadas pasan varios días antes de poder detectar anticuerpos en la sangre, que alcanzan un pico máximo y luego descienden (fig. 2-12). Si entonces se permite que el animal descanse y luego se inyecta una segunda dosis de toxoide se altera en grado no-

Hito 2-1. Teoría de la selección clonal

Producción de anticuerpos según Ehrlich

En 1894, como de costumbre muy adelantado a su tiempo, el destacado Paul Ehrlich propuso la teoría de la cadena lateral de producción de anticuerpos. Cada célula elaboraría una gran variedad de receptores de superficie que fijarían antígenos extraños de acuerdo con un mecanismo de encaje por formas complementarias de tipo "llave y cerradura". La exposición al antígeno provocaría superproducción de receptores (anticuerpos) que luego se liberarían a la circulación (fig. H2-1-1).

Teorías de los modelos

La hipótesis de Ehrlich implicaba que los anticuerpos se preformaban antes de la exposición al antígeno. Sin embargo, este concepto era difícil de aceptar cuando estudios posteriores demostraron que los anticuerpos se podían formar contra casi cualquier estructura orgánica sintetizada en el laboratorio químico (p. ej., arsonato de azobenceno; fig. 5-1), a pesar de que estas moléculas nunca se encuentran en el medio natural. Así se concibió la idea de que los anticuerpos se sintetizan utilizando el antígeno como modelo. Pasaron veinte años antes de que se descartara este concepto ante la observación de que la molécula de anticuerpo que se desplegaba con sales de guanidinio en ausencia de antígeno se volvía a plegar en forma espontánea para regenerar su especificidad original. Se descubrió que cada anticuerpo posee una secuencia de aminoácidos diferente, que gobierna su forma plegada final, y en consecuencia su estabilidad para reconocer el antígeno.

Teorías de la selección

La rueda completa su giro y una vez más se acepta que dado que los distintos anticuerpos deben ser codificados por genes separados, la información para elaborarlos se debe encontrar antes en el DNA del huésped. En 1955, Nils Jerne percibió que esto podría formar la base de una teoría selectiva para la producción de anticuerpos. Sugirió que la totalidad del repertorio de anticuerpos se expresa en grado escaso, y que cuando el antígeno ingresa en el organismo selecciona el anticuerpo complementario para formar un complejo que de alguna manera induce la síntesis adicional de ese anticuerpo en particular. No obstante, faltaba descubrir la forma.

Entonces Mac Burnett concibió la brillante idea de asignar a una base celular a este proceso de selección; que cada linfocito fuera programado para elaborar su propio anticuerpo exclusivo y que se insertara en la membrana superficial como la cadena lateral de Ehrlich. El antígeno entonces formaría el complejo propuesto por Jerne sobre la superficie del linfocito y al desencadenar su activación y proliferación clonal se sintetizarían grandes cantidades del anticuerpo específico (fig. 2-11). Ehrlich merece nuestro respeto por su visión, dado que estuvo muy cerca ya en 1894.

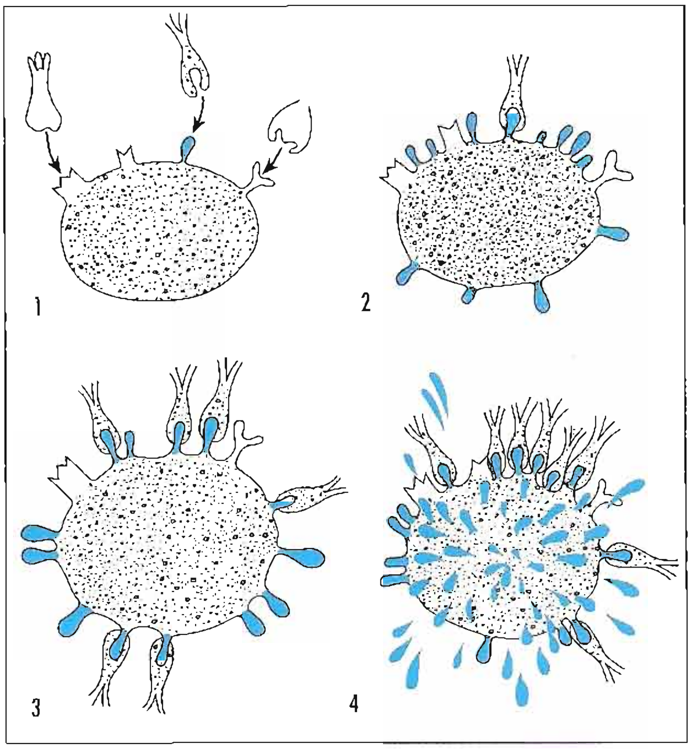


Fig. H2-1-1. Teoría de la cadena lateral de Ehrlich para la producción de Ac. (Reproducido de *Proceedings of the Royal Society B* [1900], **66**, 424.)

table el curso de los procesos. Al cabo de 2-3 días, el nivel de anticuerpos en la sangre asciende en forma abrupta hasta alcanzar valores muy superiores a los observados en la **respuesta primaria**. Esta **respuesta secundaria** se caracteriza por presentar una producción más rápida y abundante de anticuerpos como consecuencia del "precalentamiento" o el cebado del sistema productor.

Con el conocimiento actual de la función linfocitaria quizá no sorprenda comprender que éstas son las células que proporcionan la memoria inmune, lo que se demuestra mediante la **transferencia adoptiva** de linfocitos a otro animal, sistema de experimentación que se utiliza a menudo en inmunología (véase fig. 2-8). En este caso, el potencial inmunitario de las células transferidas se ex-

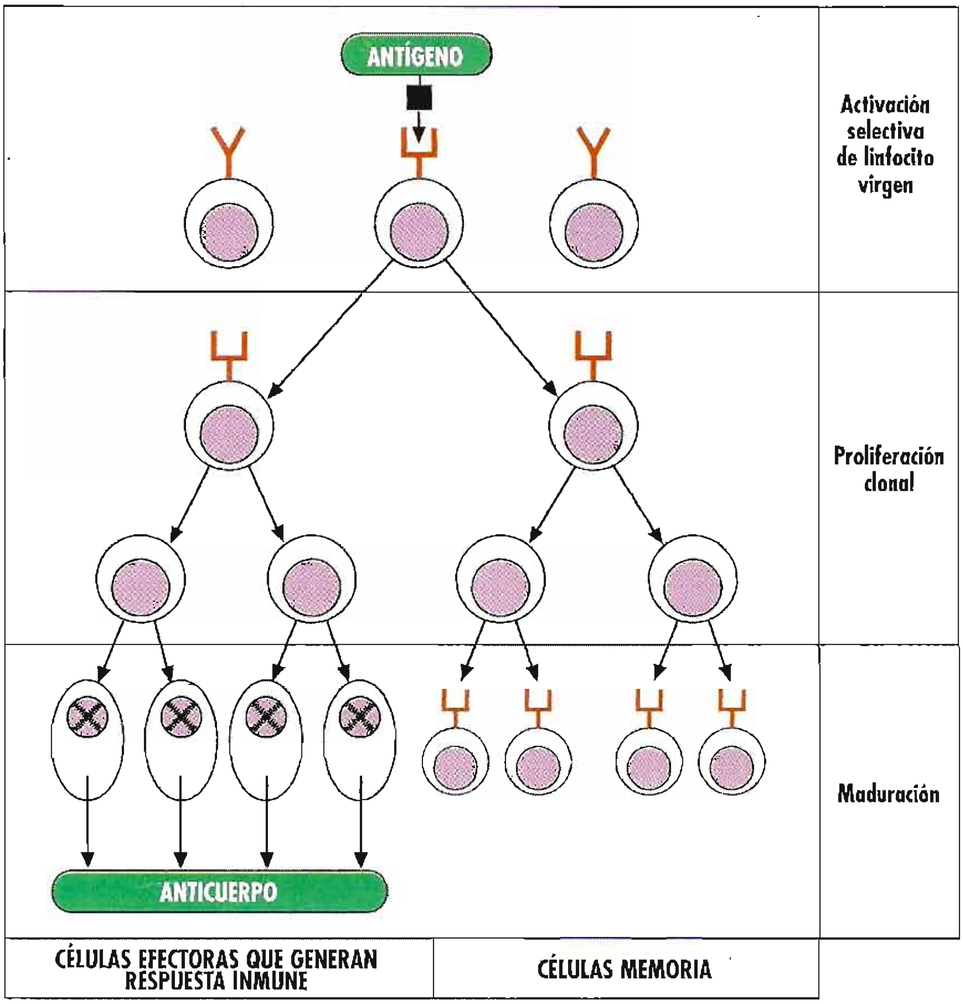

ANTÍGENO
Activación selectiva de linfocito virgen
Proliferación clonal
Maduración
ANTICUERPO
CÉLULAS EFECTORAS QUE GENERAN RESPUESTA INMUNE
CÉLULAS MEMORIA

Fig. 2-11. Base celular de la generación de células efectoras y memoria por selección clonal después del contacto primario con el antígeno. La célula seleccionada por el antígeno sufre muchas divisiones durante la proliferación clonal, y la progenie madura para dar origen a una población expandida de células formadoras de anticuerpos. La respuesta de anticuerpos es muy vulnerable a agentes antimitóticos en el estadio de proliferación. Una fracción de la progenie de los linfocitos originales reactivos frente al antígeno se transforma en células de memoria que no se dividen, mientras que otras pasan a ser las células efectoras de la inmunidad mediada por anticuerpo o, como veremos más adelante, de la inmunidad celular. Las células de memoria requieren menor cantidad de ciclos para desarrollarse como efectores, lo que acorta el tiempo de reacción para la respuesta secundaria. El clon expandido de células con memoria para el antígeno original representa la base para la respuesta inmune secundaria más intensa, respecto de la primaria. La programación con bajas dosis de antígeno a menudo puede estimular la memoria efectiva sin producir una síntesis adecuada de anticuerpo.

presa en un receptor tratado con rayos X para destruir su propia población linfocitaria; así toda respuesta inmune tendrá su origen en el donante y no en el receptor. En el experimento descrito en la figura 2-13 se tomaron linfocitos pequeños de un animal que había recibido una inyección inicial de toxoide tetánico y se transfirieron a un huésped irradiado que luego fue expuesto al antígeno; se observó una rápida e intensa producción del anticuerpo, característica de la respuesta secundaria. Para excluir la posibilidad de que la primera inyección del antígeno pudiera ejercer un efecto estimulador *inespecífico* sobre los linfocitos, en la segunda inyección se agregó hemaglutinina del virus influenza como antígeno control. Además, se debió incluir un grupo control "cruzado" programado con hemaglutinina de influenza para asegurar que este antígeno pudiera generar una respuesta secundaria. Ya se explicó el diseño del experimento con cierto detalle para alertar sobre la necesidad de la selección cuidadosa de controles.

La mayor respuesta obtenida por una población de linfocitos cebados se puede atribuir sobre todo a una expansión de la cantidad de células capaces de ser estimuladas por el antígeno (fig. 2-11), si bien más adelante se verá que también en estas células de memoria existen diferencias cualitativas (págs. 219-222).

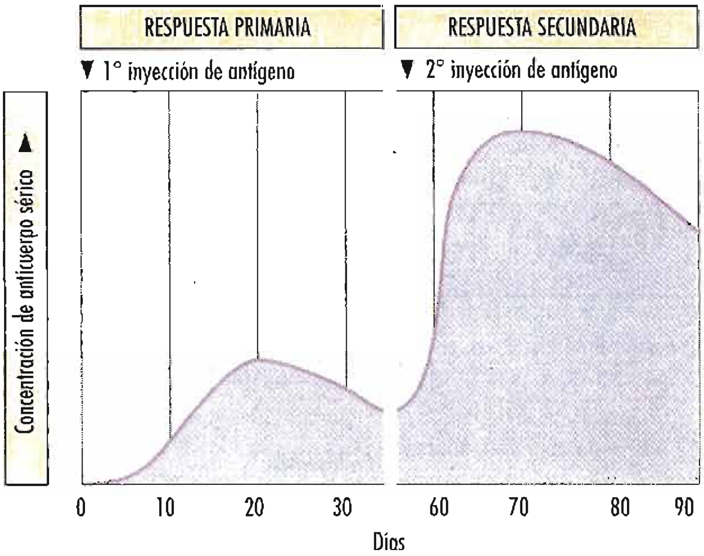


Fig. 2-12. **Respuestas primaria y secundaria.** Se inyecta un conejo con toxoide tetánico en dos ocasiones diferentes. La respuesta de anticuerpo ante el segundo contacto es más rápida e intensa.

LA INMUNIDAD ADQUIRIDA TIENE ESPECIFICIDAD DE ANTÍGENO

Discriminación entre distintos antígenos

La adquisición de memoria o inmunidad contra un microorganismo no confiere protección contra otro no relacionado con el primero. Tras una infección por sarampión se produce inmunidad contra infecciones ulteriores, pero se mantiene la susceptibilidad a otros agentes, como los virus de polio o paperas. Por lo tanto, la inmunidad adquirida muestra **especificidad**, y el sistema inmune puede diferenciar de manera específica entre los dos microorganismos. En la figura 2-13 se presentó una demostración experimental más formal de este potencial discriminatorio, donde la programación con toxoide tetánico evocó la memoria para ese antígeno y no para la influenza, y viceversa.

Es obvio que la base de este fenómeno subyace en la capacidad de los sitios de reconocimiento de las moléculas de anticuerpo para distinguir entre antígenos; los anticuerpos que reaccionan con el toxoide no se fijan al virus de influenza y, *mutatis mutandi*, como se dice, los anticuerpos contra la influenza no son afectados por el toxoide.

Discriminación entre lo propio y lo no propio

Esta capacidad para reconocer un antígeno y distinguirlo de otro llega aun más allá. El individuo también debe reconocer lo que es extraño, es decir "no propio". La incapacidad de discriminar entre lo **propio** y lo **no propio** podría inducir la síntesis de anticuerpos dirigidos contra componentes del propio organismo del sujeto (**autoanticuerpos**), lo que en principio generaría inconvenientes. Sobre bases puramente teóricas, Burnet y Fenner pensaron que el organismo debía desarrollar algún mecanismo para distinguir entre lo "propio" y lo "no propio", y propusieron que de

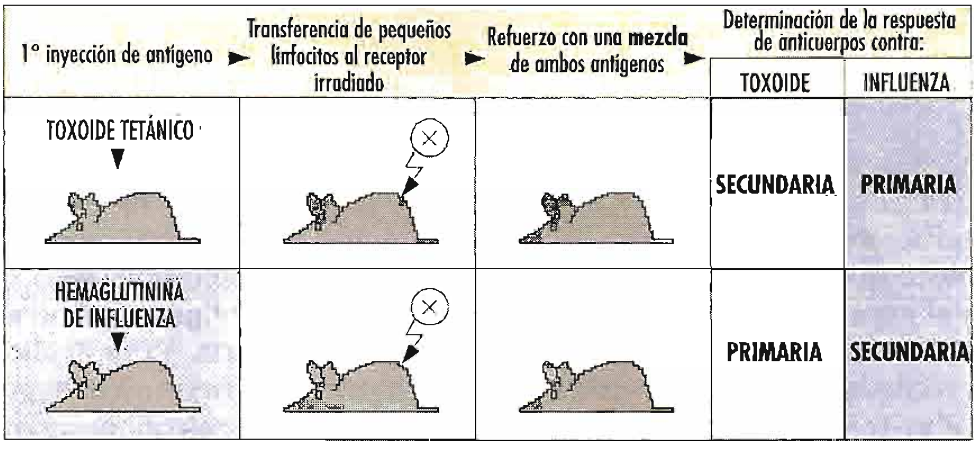

1° inyección de antígeno
Transferencia de pequeños linfocitos al receptor irradiado
Refuerzo con una **mezcla** de ambos antígenos
Determinación de la respuesta de anticuerpos contra:
TOXOIDE
INFLUENZA
TOXOIDE TETÁNICO
SECUNDARIA
PRIMARIA
HEMAGLUTININA DE INFLUENZA
PRIMARIA
SECUNDARIA

Fig. 2-13. **La memoria de una respuesta primaria se puede transferir con los linfocitos pequeños.** Los individuos receptores se tratan con una dosis de rayos X que destruye de manera directa los linfocitos (muy sensibles a las radiaciones), pero sólo afecta a las demás células del organismo cuando se dividen; así, el individuo receptor funciona como un tubo de ensayo vivo que permite seguir la actividad de las células del donante. En el texto se presentan las bases de diseño del experimento. En la práctica, y debido a la posibilidad de interferencia entre los dos antígenos, es más sensato dividir en dos cada uno de los grupos inyectados con el antígeno primario, para administrar un antígeno de refuerzo distinto a cada uno y así evitar utilizar una mezcla.

alguna manera podrían "reconocerse" como propios los componentes circulantes del organismo capaces de llegar hasta el sistema linfoide en desarrollo en el período perinatal. Entonces se crearía una falta de respuesta o **tolerancia** permanente, por lo que a medida que se alcanzaba la madurez inmune, en condiciones normales habría una incapacidad para responder contra los componentes "propios". En esta etapa cabe destacar que Burnet tuvo la sagacidad de comprender que esta teoría de la selección clonal podía proporcionar con facilidad una base celular para efectuar este mecanismo. Este autor sostenía que si cada linfocito se ocupaba de elaborar su propio anticuerpo individual, las células programadas para expresar anticuerpos que podían reaccionar con los componentes propios podían transformarse en inoperantes sin afectar los linfocitos específicos contra agentes extraños. En otras palabras, era posible suprimir o transformar en tolerantes los linfocitos que reaccionaban contra lo propio sin afectar la capacidad del huésped para generar una respuesta inmune contra los agentes infecciosos. Como se verá en el capítulo 12, estas predicciones se verificaron ampliamente, si bien se observará que a medida que se diferencian linfocitos nuevos en el curso de la vida, todos deben atravesar este proceso de control de tolerancia hacia lo propio. No obstante, la tolerancia por lo propio no es absoluta y en condiciones normales es inocua, si bien en todos los seres humanos existen linfocitos contra lo propio con potencial lesivo.

LA VACUNACIÓN DEPENDE DE LA MEMORIA ADQUIRIDA

Hace unos 200 años, Edward Jenner llevó a cabo los estudios notables que marcaron el comienzo de la inmunología como disciplina sistemática. Al observar la hermosa piel libre de pústulas de las lecheras, razonó que la exposición deliberada al virus de la viruela vacuna, no virulenta para los seres humanos, podría conferir protección contra el microorganismo relacionado de la viruela humana. En consecuencia, inoculó a un niño pequeño con el virus vacuno y observó con deleite (y un suspiro de alivio) que estaba protegido contra una exposición posterior al virus de la viruela (cabe preguntarse qué habrían opinado las comisiones de ética actuales). Al inyectar una forma inocua de un microorganismo patógeno, Jenner había utilizado la especificidad y la memoria de la respuesta inmune adquirida para establecer las bases de la **vacunación** moderna (lat. *vacca*, vaca).

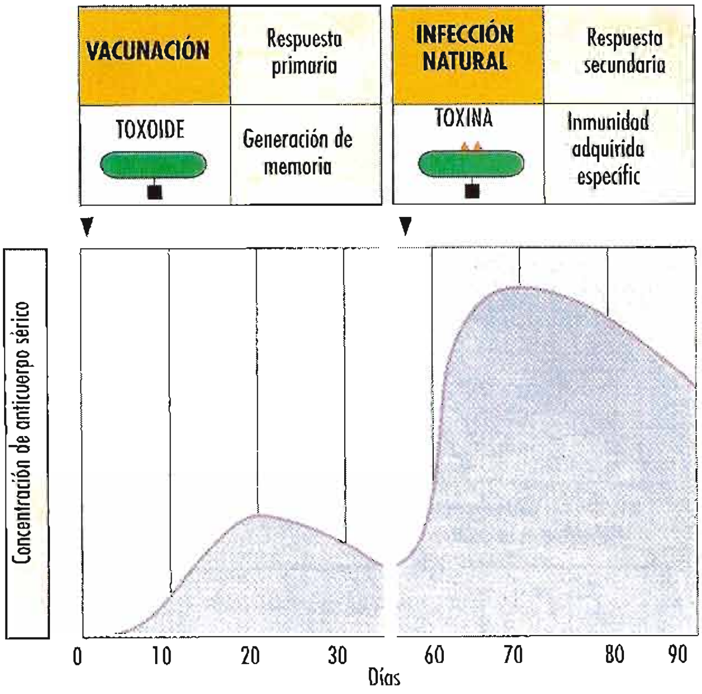
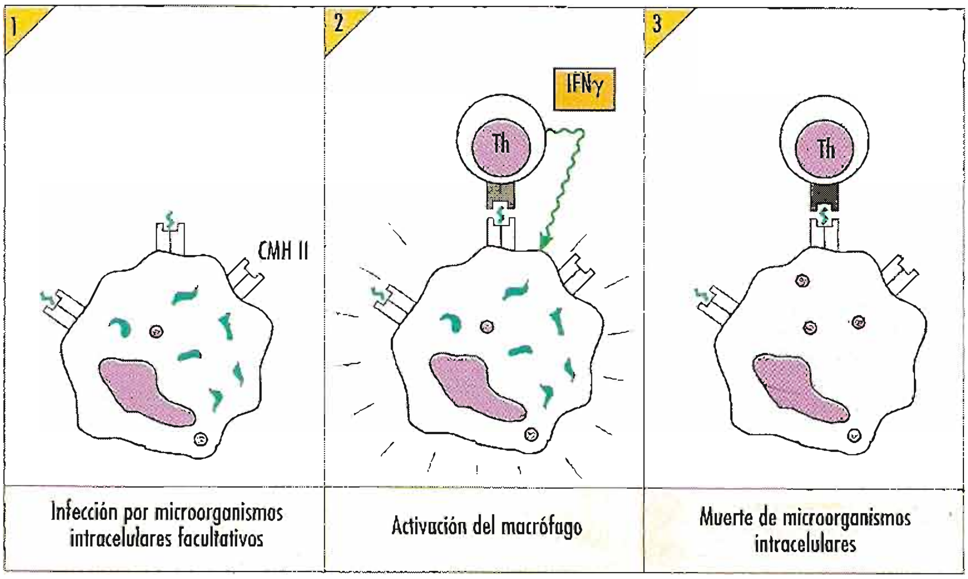


Fig. 2-14. Base de la vacunación ilustrada por la respuesta al toxoide tetánico. El tratamiento de la toxina bacteriana con formaldehído destruye su toxicidad (asociada con ••), pero mantiene la antigenicidad. La exposición a la toxina en una infección natural refuerza las células de memoria y produce niveles elevados del anticuerpo neutralizante protector.

La estrategia esencial es preparar una forma *inocua* del microorganismo infeccioso o sus toxinas que aún retengan de manera sustancial los antígenos responsables de desencadenar la inmunidad protectora, lo que se llevó a cabo mediante el uso de microorganismos muertos o vivos atenuados, componentes microbianos purificados o antígenos modificados por medios químicos (fig. 2-14).

LA INMUNIDAD CELULAR PROTEGE CONTRA MICROORGANISMOS INTRACELULARES

Muchos microorganismos viven en el interior de las células del huésped, donde es imposible que los alcancen los anticuerpos humorales. Los parásitos intracelulares obligados, como los virus, deben replicarse dentro de las células; los parásitos intracelulares facultativos, como *Mycobactera* y *Leishmania*, pueden multiplicarse en el interior de las células, en particular los macrófagos, pero no es indispensable; prefieren la vida intracelular debido a la protección que les confiere. Para manejar esta situación se desarrolló un sistema inmune totalmente distinto, basado en una subpoblación diferenciada compuesta por **células T**, denominadas así debido a que, al contrario de lo que ocurre con los linfocitos B, se di-



Infección por microorganismos intracelulares facultativos

Activación del macrófago

Muerte de microorganismos intracelulares

Fig. 2-15. Destrucción intracelular de microorganismos por los macrófagos. 1) El antígeno de superficie (§) derivado de los microorganismos intracelulares forma un complejo con las moléculas CMH clase II (⊔). 2) La célula T helper programada se fija a este complejo de superficie y es estimulada para liberar la citocina interferón γ (IFNγ). Esto activa los mecanismos antimicrobianos del macrófago. 3) El agente infeccioso es destruido oportunamente.

ferencian en **el timo**. Dado que están especializadas para operar contra células portadoras de microorganismos intracelulares, las células T sólo reconocen el antígeno cuando se encuentra en la superficie de una célula del organismo. En consecuencia, los **receptores de superficie de las células T**, que son diferentes de las moléculas de anticuerpos utilizadas por los linfocitos B, reconocen el antígeno más un marcador de superficie que informa al linfocito T que está en contacto con otra célula. Estos marcadores celulares pertenecen a un grupo importante de moléculas denominadas **complejo mayor de histocompatibilidad (CMH)**, en principio identificadas por su capacidad para generar potentes reacciones contra trasplantes entre miembros de la misma especie. Ahora las células T vírgenes o no estimuladas deben ser presentadas al antígeno y al CMH mediante una célula dendrítica especial presentadora de antígeno (figs. 2-6f y 8-13), antes de que puedan iniciarse en los ritos de una respuesta primaria. Sin embargo, una vez cebadas son activadas por el antígeno y el CMH que se encuentran en la superficie de otros tipos celulares, como los macrófagos, como se verá a continuación.

Las células T productoras de citocinas contribuyen para que los macrófagos destruyan parásitos intracelulares

Estos microorganismos sólo sobreviven dentro de los macrófagos debido a su capacidad para alterar los mecanismos destructores innatos de estas células. No obstante, no pueden impedir que el macrófago procese pequeños fragmentos antigénicos (provenientes tal vez de microorganismos que murieron en forma espontánea) y los coloque sobre la superficie de la célula huésped. Si se ceban contra ese antígeno, una subpoblación de linfocitos T denominada **células T helper** lo reconocerá y se fijará a la combinación del antígeno con las denominadas moléculas CMH **clase II** ubicadas sobre la superficie del macrófago, y producirá diversos factores solubles denominados **citocinas**, por ejemplo, las interleucinas IL-2 (pág. 199). Los diversos tipos celulares pueden elaborar distintas citocinas, y por lo general actúan a corta distancia sobre células vecinas. Algunas citocinas de células T ayudan a las células B a elaborar anticuerpos, mientras que otras, como el interferón γ (IFNγ), actúan como **factores activadores de macrófagos** que restablecen los mecanismos antimicrobianos del macrófago alterados antes y llevan a cabo la muerte del microorganismo intracelular (fig. 2-15).

Las células infectadas por virus pueden ser eliminadas por células T citotóxicas y CCDA

Ya se analizó la ventaja que representa para el huésped la destrucción de células infectadas por virus antes de que éste comience a replicarse, y que los linfocitos grandes granulares con actividad NK (pág. 19) pueden tener funciones citotóxicas. Pero las células NK tienen un espectro limitado de especificidades que debe amplificarse para mejorar su eficacia.

Esto se puede lograr al recubrir la célula blanco con anticuerpos específicos para los antígenos de superficie codificados por el virus, dado que las células NK poseen receptores para la parte constante de la molécula de anticuerpo, de modo similar a las células fagocíticas. En consecuencia, los anticuerpos

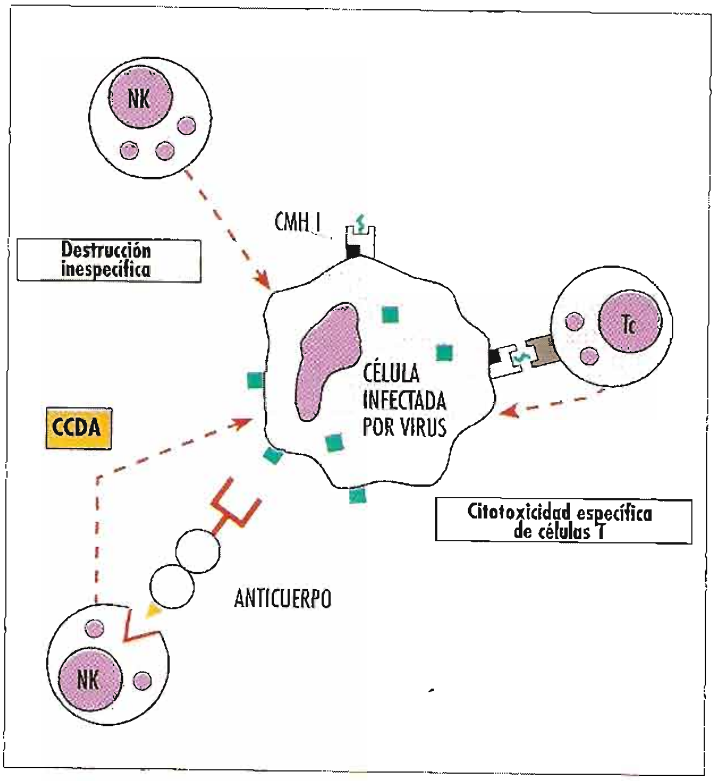

NK
CMH I
Destrucción inespecífica
CÉLULA INFECTADA POR VIRUS
Tc
CCDA
Citotoxicidad específica de células T
ANTICUERPO
NK

Fig. 2-16. **Destrucción de células infectadas por virus.** Los mecanismos inespecíficos de destrucción de la célula NK se centran sobre el blanco mediante el anticuerpo, para producir citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo (CCDA). La célula T citotóxica se une sobre la célula blanco en forma específica, por medio del reconocimiento por los receptores del antígeno de superficie asociado con las moléculas CMH clase I.

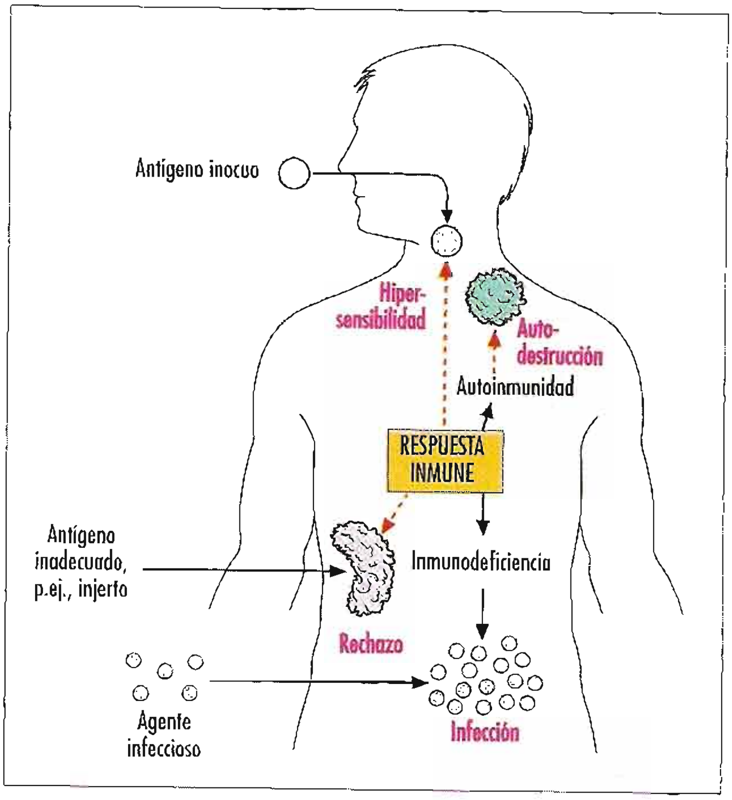


Fig. 2-17. **Las respuestas inmunes inadecuadas pueden producir reacciones lesivas** como la respuesta de hipersensibilidad ante la inhalación de alergenos por lo general inocuos, la destrucción de tejido propio por agresión autoinmune, el rechazo de tejidos trasplantados y la susceptibilidad a infecciones en personas inmunodeficientes.

acercarán la célula NK a la célula blanco con formación de puentes, y la célula activada por las moléculas de anticuerpo en el complejo podrá destruir la célula infectada por el virus mediante sus mecanismos extracelulares (fig. 2-16). Este sistema se denomina **citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (CCDA)** y es muy impresionante cuando se estudia in vitro, pero fue difícil de demostrar en toda su extensión en el organismo.

Por otra parte, se desarrolló un **subtipo de células T con potencial citotóxico,** para el que hay evidencias claras de actividad in vivo. Al igual que las células T helper, estas células poseen un amplio espectro de especificidad antigénica, dado que expresan de manera clonal un gran número de distintos receptores de superficie similares, pero no idénticos, a los receptores de anticuerpo de superficie sobre los linfocitos B. También en este caso, cada linfocito está programado para elaborar un solo receptor y, al igual que la célula T helper, sólo reconoce el antígeno asociado con un marcador celular, en este caso la molécula de CMH **clase I** (fig. 2-16). Por medio de este reconocimiento del antígeno de superficie, la célula citotóxica entra en contacto íntimo con su célula blanco y administra el "beso de la muerte por apoptosis". También libera **IFNγ**, que contribuye para limitar la diseminación del virus a las células adyacentes, sobre todo en los casos en que el mismo virus puede ser un inductor débil de IFNα o β.

En forma análoga a la célula B, las células T son seleccionadas y activadas por la combinación con el antígeno, se expanden por proliferación clonal y maduran para generar células T helper y células efectoras T citotóxicas, además de una mayor población de células memoria. En consecuencia, las células T y B proporcionan **inmunidad adquirida específica** mediante diversos mecanismos, que en la mayoría de los casos operan para ampliar el espectro de efectividad de la inmunidad innata y confieren la ventaja valiosa de preparar al organismo, frente a la primera infección, para resistir contactos posteriores con el mismo microorganismo.

INMUNOPATOLOGÍA

No cabe duda de que el sistema inmune es bueno, pero al igual que los ejércitos mercenarios, puede girar y morder la mano que lo alimenta, y así causar daño al huésped (fig. 2-17).

Por lo tanto, cuando se observa una respuesta muy elevada o hay una exposición persistente a antígenos exógenos se pueden presentar daño tisular o reacciones de **hipersensibilidad**. Son ejemplos la alergia al polen de hierbas, las discrasias sanguíneas asociadas con ciertos fármacos, la glomerulonefritis por complejos inmunes que se produce tras la infección por estreptococos y los granulomas crónicos producidos en el curso de la tuberculosis o la esquistosomiasis.

En otros casos se puede originar hipersensibilidad a autoantígenos por degradación de los mecanismos que controlan la tolerancia hacia lo propio y se descubrió una amplia variedad de **enfermedades autoinmunes**, como la diabetes insulinodependiente y muchos de los trastornos reumáticos.

Otra reacción inmunopatológica con consecuencias importantes es el **rechazo de trasplantes**, en el que los antígenos CMH del injerto del donante bien pueden provocar una fuerte reacción. Por último se debe considerar la frecuente aparición de funcionamiento inadecuado del sistema inmune, es decir, la **inmunodeficiencia**. Es de esperar que a esta altura el lector no tendrá dificultades en predecir que los inconvenientes principales de esta afección se relacionan con las infecciones persistentes de tipos relacionados con los elementos defectuosos del sistema inmune.

RESUMEN

Anticuerpo, el adaptador específico

- La molécula de anticuerpo evolucionó como adaptador específico para unirse a los microorganismos que no activaban la vía alternativa del complemento o impedían la activación de las células fagocíticas.
- El anticuerpo se fija al antígeno por medio de su sitio específico de reconocimiento, y sus regiones de estructura constante activan el complemento a través de la vía clásica (por unión de C1 y la generación de una $C\overline{4b2a}$ convertasa para escindir C3) y de los fagocitos mediante sus receptores de anticuerpos.
- Esta vía complementaria hacia la reacción inflamatoria aguda es estimulada por los anticuerpos, que sensibilizan los mastocitos, y por complejos inmunes, que estimulan la liberación de mediadores por los macrófagos tisulares (fig. 2-18).

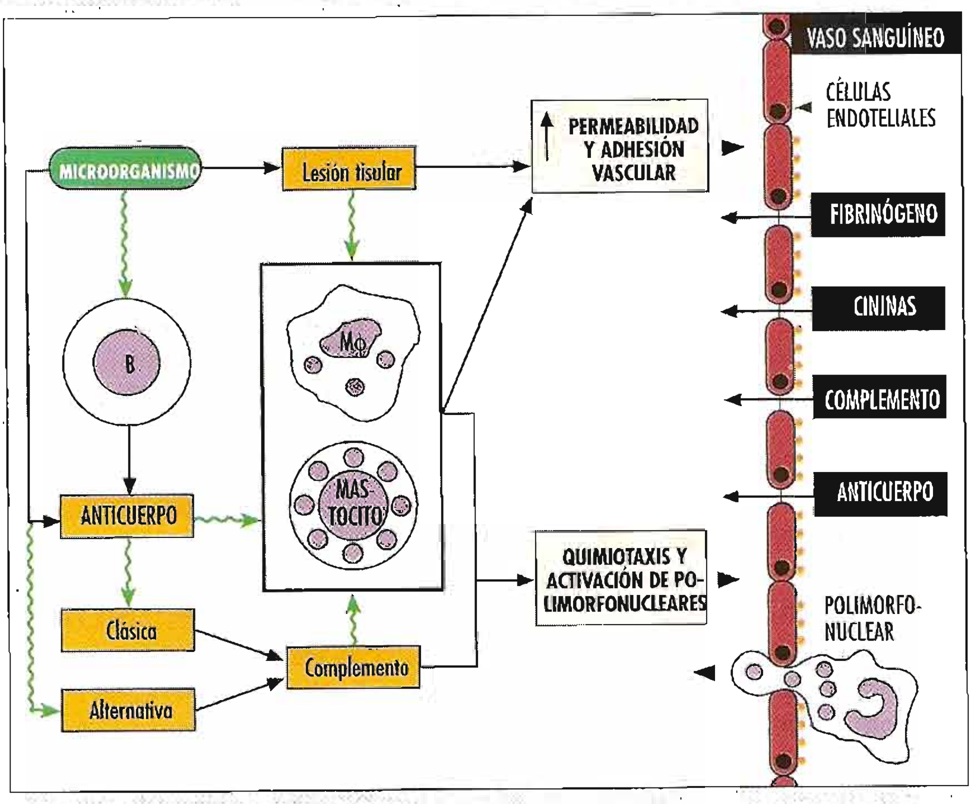

MICROORGANISMO
Lesión tisular
↑ PERMEABILIDAD Y ADHESIÓN VASCULAR
VASO SANGUÍNEO
CÉLULAS ENDOTELIALES
FIBRINÓGENO
CININAS
COMPLEMENTO
ANTICUERPO
B
Mφ
MASTOCITO
ANTICUERPO
Clásica
Alternativa
Complemento
QUIMIOTAXIS Y ACTIVACIÓN DE POLIMORFONUCLEARES
POLIMORFONUCLEAR

Fig. 2-18. Producción de una reacción inflamatoria aguda por microorganismos: i) a través de lesión tisular (p. ej., toxina bacteriana) o activación directa de la vía alternativa del complemento, o ii) por estimulación dependiente del anticuerpo de la vía clásica del complemento o desgranulación de los mastocitos (a cargo de una clase especial de anticuerpo, IgE).

Base celular de la producción de anticuerpos

- Los anticuerpos son elaborados por las células plasmáticas (plasmocitos) que derivan de los linfocitos B, cada uno programado para fabricar un anticuerpo de especificidad única ubicado en la superficie celular como receptor.
- El antígeno se une a la célula con anticuerpo complementario, la activa e induce la proliferación clonal, y por último la maduración a células formadoras de anticuerpo y células de memoria. Así, el antígeno induce la selección clonal de las células que elaboran el anticuerpo.

Memoria adquirida y vacunación

- El incremento de células de memoria tras la programación implica que la respuesta secundaria adquirida es más rápida e intensa, y proporciona la base de la vacunación mediante una forma inocua del agente infeccioso para la inyección inicial.

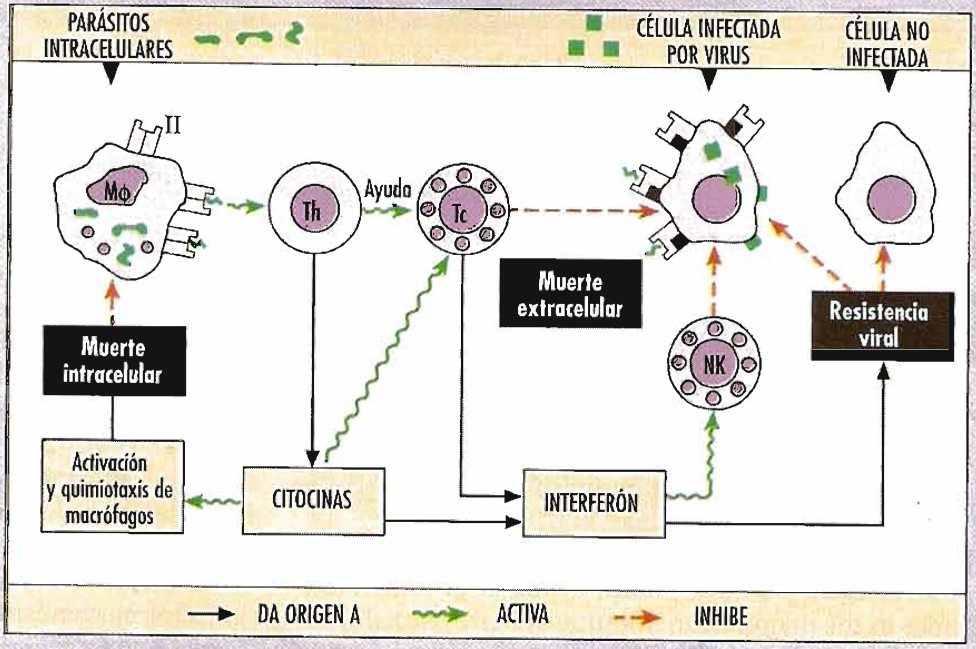
La inmunidad adquirida posee especificidad de antígeno

- Los anticuerpos diferencian a los antígenos porque el reconocimiento se basa en la complementariedad de la forma molecular. Así, la memoria inducida por un antígeno no se extiende a otro antígeno no relacionado.
- El sistema inmune diferencia los componentes propios de los extraños al transformar en inactivos los linfocitos inmaduros que reaccionan con lo propio, mediante el contacto con las moléculas del huésped; los linfocitos que reaccionan con los antígenos extraños no se ven afectados, dado que sólo entran en contacto después de alcanzar la madurez.

La inmunidad celular protege contra microorganismos intracelulares

- Otra clase de linfocitos, las células T, se encargan del control de las infecciones intracelulares. Al igual que las células B, cada célula T posee un solo receptor de antígeno (aunque difiere en estructura del anticuerpo) que reconoce el antígeno y luego la célula sufre expansión clonal para formar células efectoras y memoria que proporcionan la inmunidad adquirida específica.
- La célula T reconoce los antígenos de superficie celular asociados con las moléculas del CMH. Las células T no programadas sólo son estimuladas para generar una respuesta primaria por células dendríticas presentadoras de antígeno especializadas.
- Las células T helper cebadas, que detectan el antígeno del CMH clase II en la superficie de los macrófagos, liberan citocinas que en algunos casos pueden contribuir para que las células B elaboren el anticuerpo y que en otros activen los macrófagos y les permitan destruir parásitos intracelulares.
- Las células T citotóxicas tienen la capacidad de reconocer antígenos específicos del CMH clase I en la superficie de células infectadas por virus destruidas antes de que éstos se repli-

Fig. 2-19. Las células T se unen con el sistema inmune innato para resistir la infección intracelular. Las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad clase I (■) y clase II (□) son importantes para el reconocimiento del antígeno de superficie por las células T. Las células T helper (Th) colaboran en el desarrollo de las células T citotóxicas (Tc) a partir de precursores. Los mecanismos antimicrobianos de los macrófagos (Mϕ) son activados por las linfocinas activadoras de macrófagos. El interferón inhibe la replicación viral y estimula las células NK que junto con Tc destruyen las células infectadas por virus.



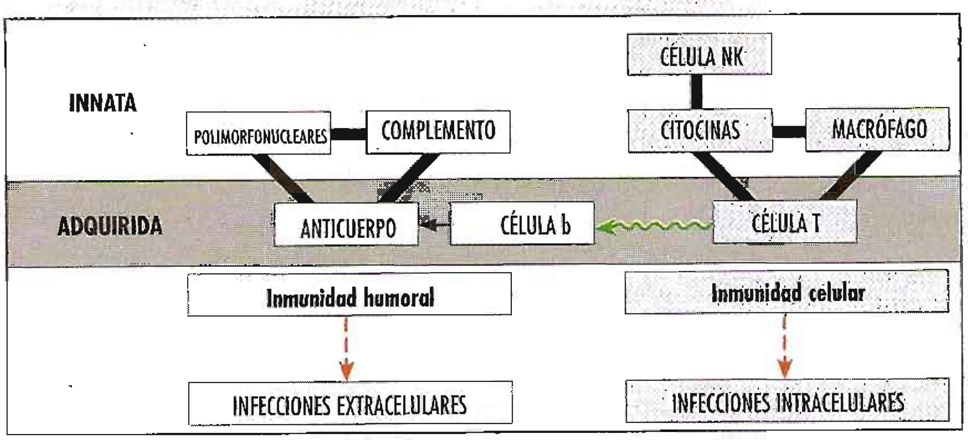


Fig. 2-20. Se observan las dos vías que relacionan las inmunidades innata y adquirida, y proporcionan las bases para las inmunidades humoral y celular, respectivamente.

quen. También liberan interferón γ que torna las células vecinas resistentes a la diseminación viral (fig. 2-19).

- Las células NK poseen receptores "inespecíficos" similares a lectinas para las células infectadas por virus, pero carecen de receptores específicos de antígeno; sin embargo, pueden reconocer células infectadas por virus y recubiertas por anticuerpo por medio de sus receptores Fcγ, y destruir la célula blanco por citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo (CCDA).
- Si bien los mecanismos innatos no mejoran con la exposición repetida a la infección, como ocurre con la adquirida, desempeñan un papel vital, dado que están íntimamente relacionados con los sistemas adquiridos por **dos vías diferentes** que casi **engloban la totalidad de la inmunología**. El anticuerpo, el complemento y los polimorfonucleares confieren protección contra la mayoría de los microorganismos extracelulares, mientras que las células T, las citocinas solubles, los macrófagos y las células NK intervienen en las infecciones intracelulares (fig. 2-20).

Inmunopatología

- La lesión tisular del huésped mediada por procesos inmunopatológicos puede producirse como consecuencia de:

Reacciones inadecuadas de hipersensibilidad ante antígenos exógenos.
Pérdida de la tolerancia a lo propio que da origen a enfermedades autoinmunes.
Reacciones ante injertos extraños.

- La inmunodeficiencia deja al individuo susceptible a infecciones.

Véanse preguntas de opciones múltiples en el sitio web correspondiente (www.roitt.com).

LECTURAS SUGERIDAS

Lecturas generales

Aderem A. & Underhill D.M. (1999) Mechanisms of phagocytosis in macrophages. *Annual Review of Immunology* 17, 593.

Alt F. & Marrack P. (eds) (2001) *Current Opinion in Immunology* 13. (De aparición bimestral; el ejemplar Nº 1 se refiere a "inmunidad innata".)

Gudmundsson G.H. & Agerberth B. (1999) Neutrophil antibacterial peptides, multifunctional effector molecules in the mammalian immune system. *Journal of Immunological Methods* **232**, 45.

Leyy Q (1996) Antibiotic proteins of polymorphonuclear leukocytes. *European Journal of Haematology* **56**, 263.

Matzinger P. (1998) An innate sense of danger. *Seminars in Immunology* **10**, 399.

Morgan B.P. (1991) *Complement. Clinical Aspects and Relevance to Disease.* Academic Press, London.

Neth O. *et al.* (2000) Mannose-binding lectin binds to a range of clinically relevant micro-organisms and promotes complement deposition. *Infection and Immunity* **68**, 688.

Reid K.B.M.(1995) The complement system—a major effector mechanism in humoral immunity. *The Immunologist* **3**, 206.

Segal A.W. & Abo A. (1993). The biochemical basis of the NADPH oxidase of phagocytes. *Tends in Biochemical Sciences* **18**, 43.

Shi L., Krant R P., Aebersold R. & Greenberg A.H. (1992) An NK cell granule protein that induces DNA fragmentation and apoptosis (in perforin permeabilized cells). *Journal of Experimental Medicine* **175**, 553.

Sitaram N. & Nagaraj R. (1999) Interaction of aritimicrobial peptides with biological and model membranes: structural ant charge requirements for activity. *Biochimica et Biophysica Acta—Biomembranes* **1462**, 29.

Reference work

Delves P.J. & Roitt I.M. (eds) (1998) *Encyclopedia of Immunology*, 2nd edn. Academic Press, London. (Cubre casi todos los aspectos del tema y describe las respuestas inmunes contra la mayoría de las infecciones.)

Historical

Clarke W.R.(1991) *The Experimental Foundations of Modern Immunology*, 4th edn. John Wiley & Sons, New York. (Importante para los lectores interesados en apreciar los experimentos conducentes a muchos de los descubrimientos principales.)

Ehrlich P. (1890) On immunity with special reference to cell life. In Melchers F. *et al.* (eds) *Progress in Immunology* **VII**. Springer-Verlag, Berlin. (Traducción de una conferencia en la Royal Society –Londres– sobre la teoría de la cadena lateral en la formación de anticuerpos, que muestra la genialidad perceptiva de este autor. Indispensable.)

Landsteiner K. (1946) *The Specificity of Serological Reactions*. Harvard University Press (Reimpresión de 1962, por Dover publications, New York.)

Mazumdar P.M.M. (ed.) (1989) *Immunology 1930-1980*. Wall & Thompson, Toronto.

Metchnikoff E. (1893) *Comparative Pathology of Inflammation*. Kegan Paul, Trench, Trubner, London (Traducción de F.A. & E.H. Starling.)

Palmer R. (ed.) (1993) *Outstanding Papers in Biology*. Current London. (Es una delicia buscar entre algunos de los papeles iniciales que dieron forma a la biología moderna; maravilloso material para el docente.)

Silverstein A.M. (1989) *A History of Immunology*. Academic Press, San Diego.

Tauber A.I. (1991) *Metchnikoff and the Origins of Immunology*. Oxford University Press, Oxford.

Series más profundas para el lector avanzado

Advances in Immunology (Annual). Academic Press, London.

Advances in Neuroimmunology (edited by G.B. Stefano & E.M. Smith). Pergamon, Oxford.

Annual Review of Immunology. Annual Reviews Inc., California.

Immunological Reviews (edited by P. Parham). Munksgaard, Copenhagen. (Especializado, autorizado y generador de ideas.)

Progress in Allergy. Karger, Basle.

Seminars in Immunology. Academic Press, Cambridge. (Tratamiento en profundidad de temas puntuales.)

Cuadro 2-1. *Principales publicaciones sobre inmunología y sus factores de impacto*

PUBLICACIONES GENERALES DE INTERÉS PARTICULAR PARA LOS INMUNÓLOGOS	*FACTOR DE IMPACTO
Cell	36,2
EMBO J.	14,0
Lancet	10,2
Nature	29,5
Nature Medicine	26,6
New England Journal of Medicine	28,9
Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA	10,3
Science	24,6
PUBLICACIONES INMUNOLÓGICAS	***FACTOR DE IMPACTO**
Autoimmunity	1,1
Cancer Immunology Immunotherapy	2,3
Cellular Immunology	2,3
Clinical and Experimental Allergy	2,7
Clinical and Experimental Immunology	2,8
European Journal of Immunology	5,6
Human Immunology	2,6
Immunity	20,6
Immunogenetics	2,9
Immunology	2,6
Immunopharmacology	1,4
Infection and Immunity	4,2
International Archives of Allergy and Applied Immunology	1,9
International Immunology	2,9
Journal of Allergy and Clinical Immunology	4,6
Journal of Autoimmunity	2,2
Journal of Clinical Immunology	2,4
Journal of Experimental Medicine	15,7
Journal of Immunology	7,1
Journal of Immunological Methods	1,9
Journal of Immunotherapy	3,1
Journal of Reproductive Immunology	1,5
Molecular Immunology	2,1
Nature Immunology	N/D
Parasite Immunology	2,0
Scandinavian Journal of Immunology	1,7
Tissue Antigens	3,0
Transplantation	3,5
Vaccine	3,2

***FACTOR DE IMPACTO:** frecuencia relativa con la que se citaron los "artículos promedio" de las revistas en otras publicaciones. N/D: No disponible

CAPÍTULO 3

Anticuerpos

www.el12cirujano.blogspot.com/

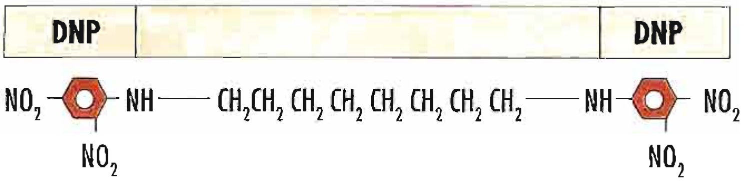
Introducción, 41
Los anticuerpos poseen sitios distintos para la fijación del antígeno, 41
Las secuencias de aminoácidos revelan variaciones en la estructura de las inmunoglobulinas, 43
Genes de inmunoglobulinas, 44
  Las inmunoglobulinas son codificadas por múltiples segmentos de genes, 44
  Un mecanismo especial efectúa la recombinación *VDJ*, 45
Variantes estructurales de la molécula básica de inmunoglobulina, 45
  Isotipos, 45
  Alotipos, 48
  Idiotipos, 48
Las inmunoglobulinas se pliegan en dominios globulares con distintas funciones, 49
  Los dominios de las inmunglobulinas tienen una estructura característica, 49
  El dominio variable fija el antígeno, 50
  Los dominios de las regiones constantes determinan la función biológica secundaria, 50
Clases y subclases de inmunoglobulinas, 50
  La inmunoglobulina G desempeña funciones importantes, pero variables, en las defensas extracelulares, 50
  La inmungloblina A protege las superficies mucosas, 58
  La inmunoglobulina M representa una defensa contra la bacteriemia, 59
  La inmunoglobulina D es un receptor de superficie celular, 60
  La inmunoglobulina E desencadena reacciones inflamatorias, 60
  Las inmunoglobulinas se dividen en subclases, 62
Resumen, 63
Lecturas sugeridas, 64

INTRODUCCIÓN

La molécula de anticuerpo se compone de dos cadenas pesadas idénticas y dos cadenas livianas idénticas entre sí, que se mantienen unidas mediante enlaces disulfuro intercatenarios (fig. H3-1-1). Estas cadenas pueden separarse por reducción de los enlaces S-S y acidificación. En el tipo de anticuerpo más abundante de la circulación, la **inmunoglobulina G**, la región bisagra expuesta tiene estructura extendida debido al alto contenido de prolina, por lo que es vulnerable al ataque proteolítico; en consecuencia, es muy fácil escindir la molécula en el laboratorio mediante papaína, para obtener dos fragmentos **Fab** idénticos, cada uno con un único sitio de combinación para el antígeno, y un tercer fragmento, **Fc**, que carece de capacidad para fijar el antígeno. La pepsina ataca en otro punto y escinde el Fc del resto de la molécula, para separar un fragmento 5S de gran tamaño que se designa $F(ab')_2$, dado que se mantiene divalente con respecto a la fijación al antígeno, al igual que el anticuerpo original (hito 3-1).

LOS ANTICUERPOS POSEEN SITIOS DISTINTOS PARA LA FIJACIÓN DEL ANTÍGENO

Se demostró con claridad la ubicación de los sitios de combinación con el antígeno en un estudio de anticuerpos purificados con el grupo dinitrofenol (DNP) mezclado con el compuesto:



La distancia que separa los dos grupos DNP es suficiente para que cada uno de ellos no interfiera en la combinación con el anticuerpo, por lo que es posible unir extremo a extremo los sitios de combinación con el antígeno de dos anticuerpos diferentes. Mediante tinción negativa para microscopio electrónico se observa un conjunto de formas geométricas que representan las diferentes estructuras posibles, si se busca formar un complejo entre este antígeno divalente y una molécula flexible con forma de Y en bisagra, con

Hito 3-1. Estructura tetrapeptídica de los monómeros de inmunoglobulina

En los estudios iniciales se demostró que la mayor parte de la actividad de anticuerpo sérico aparecía en la fracción lenta de la electroforesis denominada γ globulina (luego inmunoglobulina). Los anticuerpos más abundantes eran divalentes, es decir, poseían dos sitios de combinación con el antígeno, por lo que podían formar un complejo que precipitaba (véase fig. 6-2).

Rodney Porter y Gerald Edelman merecen nuestro reconocimiento por haber descubierto los secretos de la estructura básica de la molécula de inmunoglobulina. Si se reducen los enlaces disulfuro internos, las cadenas polipeptídicas que la componen permanecen unidas por fuertes atracciones no covalentes. Sin embargo, si se mantiene la molécula reducida en condiciones de acidez se pierden estas fuerzas de atracción debido a la carga positiva que adquieren las cadenas, por lo que es posible separarlas mediante filtración en gel en las denominadas cadenas pesadas, de unos 55.000 Da (para IgG, IgA e IgD) o 70.000 (para IgM e IgE), y las cadenas livianas, más pequeñas, de unos 24.000 Da.

Las claves del ensamblaje de las cadenas para formar la molécula de anticuerpo se obtuvieron a partir de clivajes selectivos mediante enzimas proteolíticas. La papaína destruye el poder precipitante de la molécula intacta, pero produce dos fragmentos Fab univalentes que retienen la capacidad de unirse al antígeno (Fab = del inglés *fragment antigen binding*); el fragmento restante no posee afinidad por el antígeno y fue denominado Fc por Porter (*fragmento cristalizable*). Tras la digestión con pepsina se aisló una molécula $F(ab')_2$; es capaz de precipitar el antígeno y por lo tanto retenía ambos sitios de unión, mientras que la porción Fc se degradaba aún más. La base estructural de estas observaciones se aprecia con claridad en la figura H3-1-1. En esencia y con cambios menores, todas las moléculas de inmunoglobulina se construyen a partir de una o más de las unidades monoméricas básicas de cuatro cadenas.

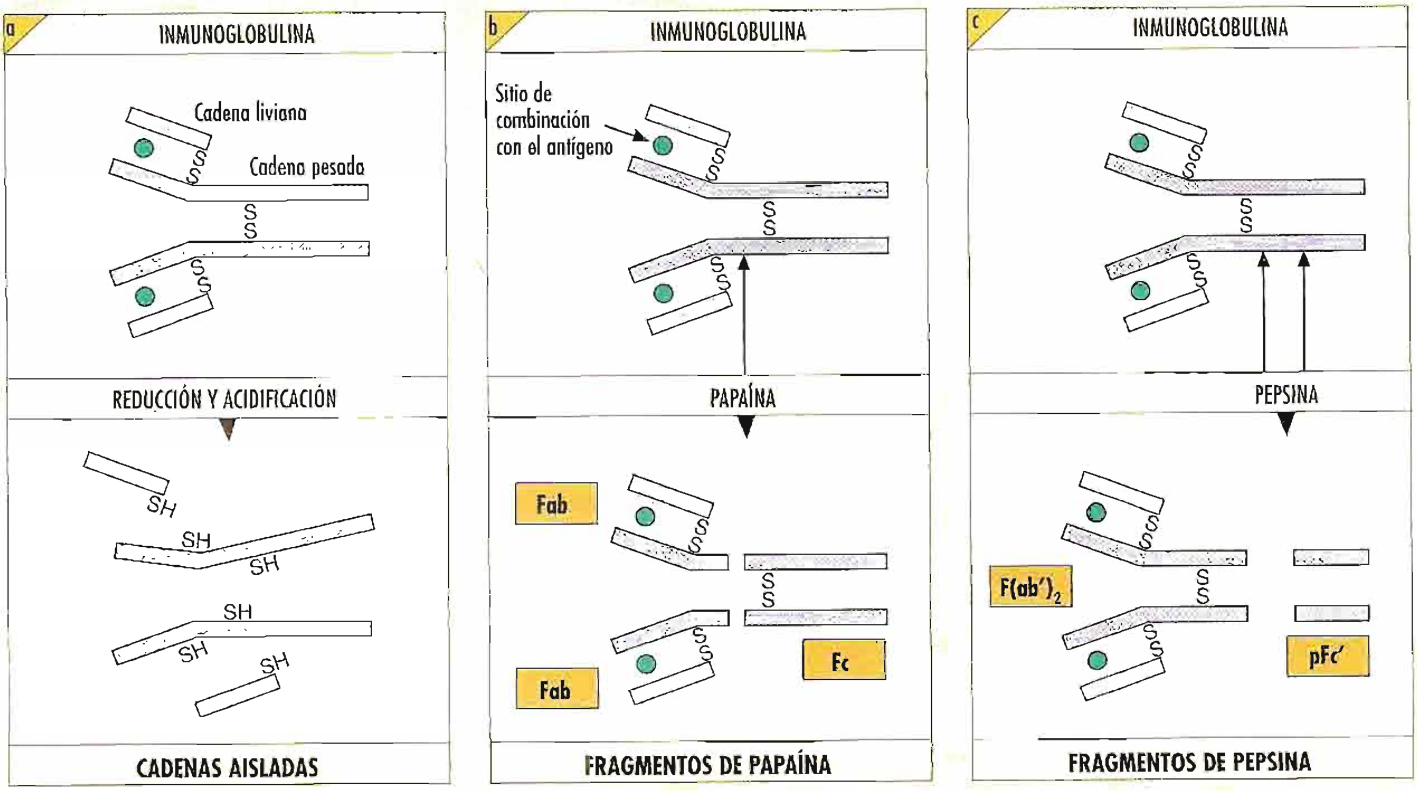


Fig. H3-1-1. **La unidad básica de los anticuerpos, compuesta por dos cadenas pesadas idénticas y dos cadenas livianas** idénticas que permanecen unidas mediante enlaces disulfuro, se puede romper para dar las cadenas polipeptídicas que la constituyen y dos fragmentos proteolíticos, el $F(ab')_2$ de la pepsina, que mantiene dos sitios de unión con el antígeno, y el Fab de la papaína, con uno. Tras la digestión con pepsina se forma el fragmento pFc' que representa la mitad del C terminal de la región Fc y se mantiene unido por enlaces no covalentes. La porción de la cadena pesada en el fragmento Fab se designa con el símbolo Fd. El residuo N-terminal se encuentra a la izquierda de cada cadena.

un sitio de combinación en el extremo de cada uno de los dos brazos de la Y. Se distinguen con facilidad trímeros triangulares, tetrámeros cuadrados y pentámeros pentagonales (fig. 3-1). En la figura 3-2 se indica cómo se originan estas formas poliméricas. Se destacan la posición del fragmento Fc y la ausencia de compromiso en la combinación con el antígeno a partir de la forma de los polímeros formados con el fragmento F(ab')$_2$ de pepsina (fig. 3-1C).

LAS SECUENCIAS DE AMINOÁCIDOS REVELAN VARIACIONES EN LA ESTRUCTURA DE LAS INMUNOGLOBULINAS

La población de anticuerpos en cualquier individuo dado es increíblemente heterogénea, por buenas razones, y esto implica la inutilidad de determinar las secuencias de aminoácidos hasta demostrar la posibilidad de obtener el producto homogéneo de un único clon. La oportunidad de hacerlo llegó recién con el estudio de las **proteínas de mieloma**.

En la patología humana denominada mieloma múltiple, una célula que elabora una inmunoglobulina particular se divide una y otra vez en forma descontrolada, similar a lo que ocurre en el cáncer, sin tener en cuenta los requerimientos generales del huésped. En consecuencia el paciente posee enormes cantidades de células idénticas derivadas como un clon de la célula original y todas sintetizan la misma inmunoglobulina, la proteína de mieloma o proteína M, que aparece en el suero, a veces en concentraciones muy elevadas. Mediante la purificación de la proteína de mieloma es posible obtener una preparación de una inmunoglobulina con estructura singular. Los **anticuerpos monoclonales** también se obtienen mediante la fusión de células individuales formadoras de anticuerpo con un tumor de células B, con el fin de producir un clon de células en constante división dedicadas a elaborar ese anticuerpo (véanse figs. 2-11 y 6-20).

El estudio de las secuencias de varias de estas proteínas reveló que las porciones N de las cadenas pesada y liviana muestran considerable variabilidad, mientras que las partes remanentes de las cadenas son relativamente constantes, y se agrupan en una cantidad restringida de estructuras. Por convención se habla de regiones variable y constante en las cadenas pesada y liviana (fig. 3-3).

Ciertas secuencias de las regiones variables muestran diversidad bastante notable, y el análisis sistemático ubica estas secuencias hipervariables en tres segmentos de la cadena liviana (fig. 3-4), y tres en la cadena pesada.

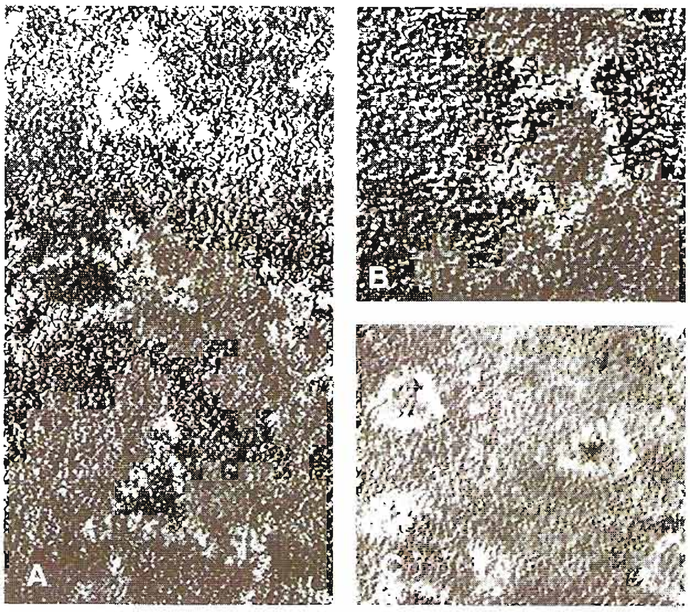


Fig. 3-1. A y B. Microfotografías electrónicas (× 1.000.000) de complejos formados por la mezcla de hapteno DNP divalente con anticuerpos antiDNP de conejo. El ácido fosfotúngstico para "tinción negativa" es una solución electrondensa que penetra en los espacios entre las moléculas de proteína; así, la proteína se destaca como una estructura "clara" en el haz de electrones. El hapteno une las moléculas de anticuerpo con forma de Y para formar trímeros (**A**) y pentámeros (**B**) (véase fig. 3-2). La flexibilidad de la molécula en la región bisagra se evidencia en la variación del ángulo de los brazos de la "Y". C) Como en **A**; pero los trímeros se forman con el fragmento de anticuerpo F(ab')$_2$ del que se digirieron las estructuras Fc mediante pepsina (× 500.000). Se ve que los trímeros carecen de las proyecciones Fc en cada ángulo, como en **A**. (Según Valentine RC y Green NM [1967] *Journal of Molecular Biology* 27, 615; gentileza del doctor Green y con autorización de Academic Press, Nueva York.)

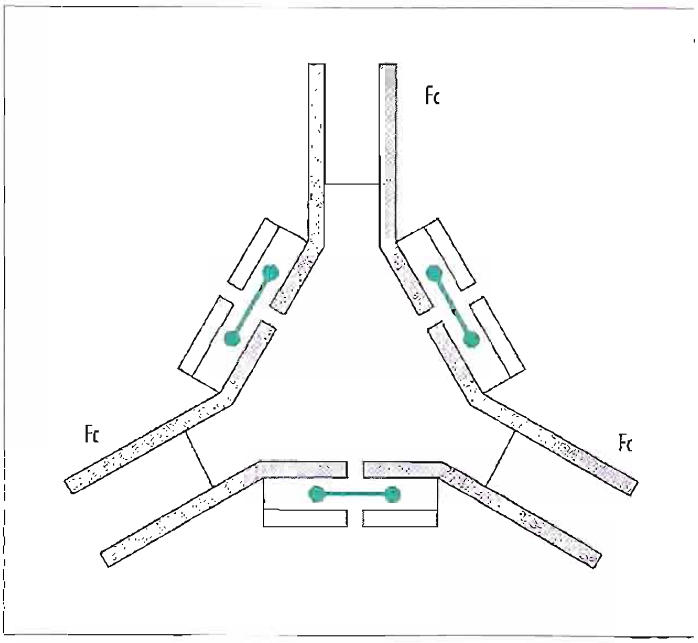


Fig. 3-2. Tres moléculas de anticuerpos anti DNP unidas como trímero por el antígeno divalente (●—●). Compárese con la figura 3-1A. Cuando los fragmentos Fc son eliminados por la pepsina ya no se distinguen las porciones de los ángulos (fig. 3-1C).

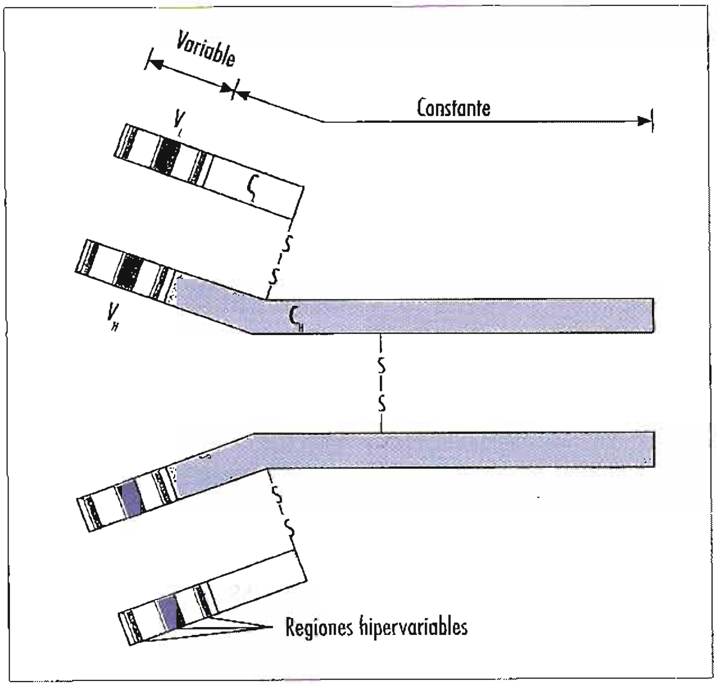


Fig. 3-3. Variabilidad de la secuencia de aminoácidos en la molécula de anticuerpo. Se usan los términos "región V" y "región C" para designar las regiones variable y constante, respectivamente; "V_L" y "C_L" son denominaciones genéricas para estas regiones en la cadena liviana, mientras que "V_H" y "C_H" especifican las regiones variable y constante de la cadena pesada. Ciertos segmentos de la región variable son hipervariables, mientras que las regiones adyacentes del armazón están más conservadas. Como ya se destacó, las cadenas pesadas de cada par son idénticas, al igual que las livianas de cada par.

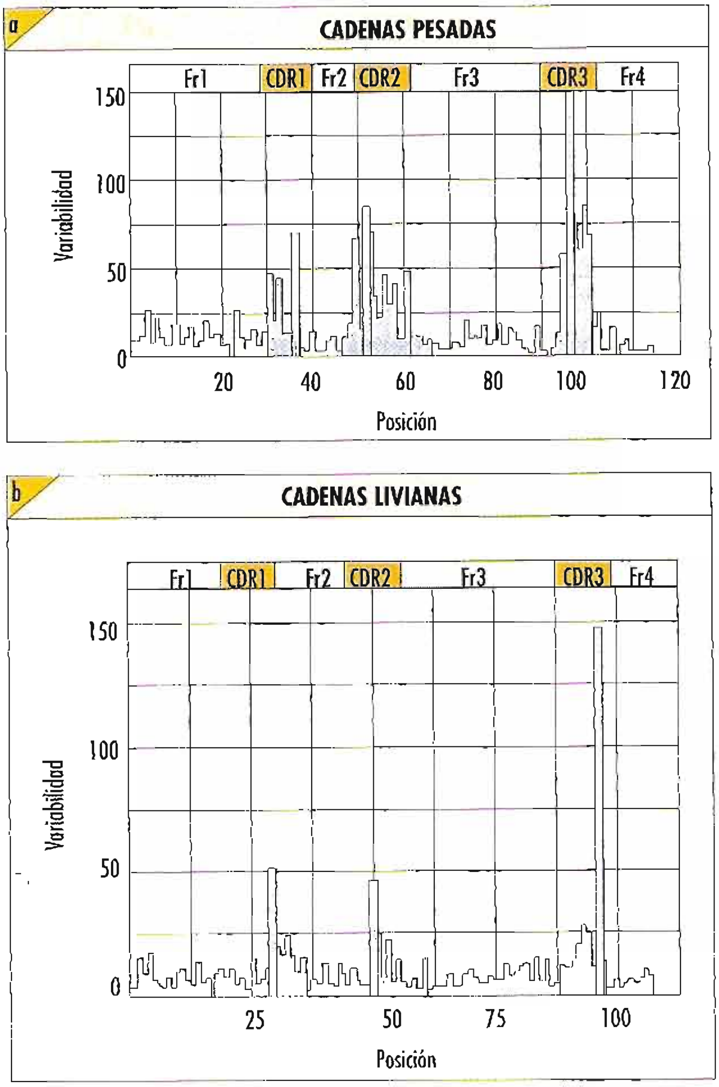


Fig. 3-4. Gráfico de Wu y Kabat sobre la variabilidad de aminoácidos en la región variable de las cadenas livianas y pesadas de las inmunoglobulinas. Se comparan las secuencias de las cadenas de numerosas proteínas monoclonales de mieloma, y se computa la variabilidad en cada posición, en función de la cantidad de aminoácidos diferentes hallados dividida por la frecuencia del aminoácido más común. Es obvio que a mayor número le corresponde mayor variabilidad; para un residuo en el que todos los 20 aminoácidos aparecen al azar, la cantidad será 400 (20 ÷ 0,05), y para un residuo totalmente invariante, la cifra será 1 (1 ÷ 1). Se definen con claridad las tres regiones hipervariables (azul) en las cadenas **a)** pesada y **b)** liviana, por lo general denominadas **regiones determinantes de complementariedad (CDR)**. Las secuencias peptídicas (gris) intermedias se denominan regiones marco (Fr1-4). (Gentileza del profesor E.A. Kabat.)

GENES DE INMUNOGLOBULINAS

Las inmunoglobulinas son codificadas por múltiples segmentos de genes

En tres cromosomas diferentes se encuentran cúmulos de genes que codifican cadenas livianas κ, cadenas livianas λ y cadenas pesadas, respectivamente. Dado que se puede producir una amplia diversidad de anticuerpos con secuencias de aminoácidos diferentes, debe haber secuencias de nucleótidos correspondientes que los codifiquen. No obstante, el gen completo que codifica cada cadena liviana y pesada no se encuentra como tal en el DNA heredado (línea germinal), sino que se crea durante el desarrollo temprano de la célula B por la unión de minisegmentos del gen. Por ejemplo, si se toma la cadena liviana κ humana, la región variable se compone de dos segmentos genéticos, uno V_κ grande y uno J_κ pequeño, mientras que un único gen codifica la región constante (fig. 3-5). Hay un cúmulo de unos 40 genes V_κ y sólo cinco genes J_κ funcionales. En la célula B inmadura, un proceso de traslocación induce la unión de uno de los genes V_κ con uno de los segmentos J_κ. Cada segmento *V* posee una secuencia guía propia y varios sitios promotores corriente arriba, incluso una secuencia octamérica característica, a la que se unen los factores de transcripción (fig. 3-6). Cuando se transcribe el gen de Ig, el ensamblaje del RNA nuclear acerca la secuencia $V_\kappa J_\kappa$ a la secuencia C_κ de la región constante, por lo que en el retículo endoplasmático se lee todo el conjunto como un polipéptido continuo de cadena κ.

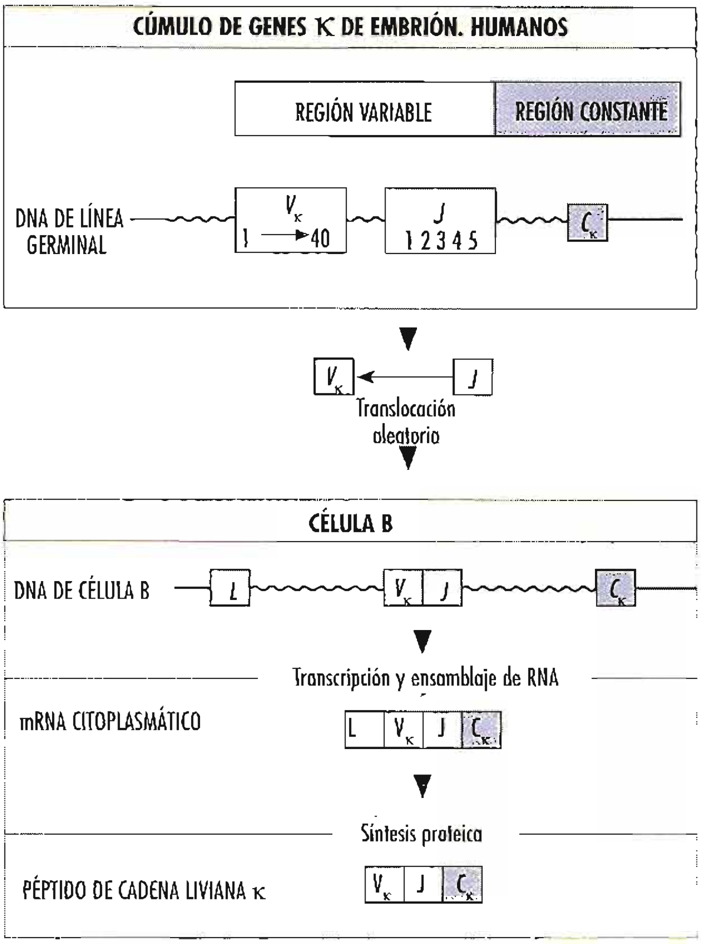

CÚMULO DE GENES κ DE EMBRIÓN. HUMANOS
REGIÓN VARIABLE
REGIÓN CONSTANTE
DNA DE LÍNEA GERMINAL
Vκ
1 → 40
J
1 2 3 4 5
Cκ
Vκ
J
Translocación aleatoria
CÉLULA B
DNA DE CÉLULA B
L
Vκ
J
Cκ
Transcripción y ensamblaje de RNA
mRNA CITOPLASMÁTICO
L
Vκ
J
Cκ
Síntesis proteica
PÉPTIDO DE CADENA LIVIANA κ
Vκ
J
Cκ

Fig. 3-5. Base genética de la síntesis de cadenas κ en seres humanos. Los genes V_κ se disponen en un conjunto de familias o grupos de secuencia estrechamente relacionada. Cada gen V_κ tiene su propia secuencia guía (*L*). A medida que la célula se torna inmunocompetente se forma la región variable por combinación aleatoria de uno de los 40 genes V_κ con uno de los cinco segmentos *J* de unión, un proceso de reordenamiento genético facilitado por las secuencias de bases del intrón que sigue al extremo 3' del segmento V_κ que se aparea con las secuencias del intrón 5' de *J*. El acoplamiento final tiene lugar cuando la secuencia intermedia entre *J* y C_κ es ensamblada y separada del RNA transcripto. Por convención se representan los genes en itálica y los antígenos que codifican en tipo normal.

El mismo principio general se aplica a la disposición de los genes de la cadena liviana λ y de la cadena pesada, si bien la última constelación muestra características adicionales: los genes de las distintas regiones constantes forman un solo cúmulo y hay un grupo de unos 25 segmentos *D* muy variables ubicados entre las regiones *V* y *J* (fig. 3-7). El segmento *D* y sus uniones con los segmentos *V* y *J* codifican casi la totalidad de la tercera región hipervariable, mientras que las primeras dos regiones hipervariables se codifican en su totalidad dentro de la secuencia *V*.

Un mecanismo especial efectúa la recombinación *VDJ*

En esencia, la traslocación implica el reconocimiento mutuo de las secuencias señal conservadas de recombinación heptámero-espaciador-nonámero que flanquean cada segmento de línea germinal, *V*, *D* y *J* (fig. 3-8). Los productos de los genes activadores de la recombinación *RAG-1* y *RAG-2* catalizan la introducción de espacios bicatenarios entre los elementos que se van a unir y sus respectivas secuencias flanqueadoras. En esta etapa se pueden eliminar o insertar nucleótidos entre los elementos de unión *VD*, *DJ* o *VJ* antes de que se liguen en forma definitiva.

VARIANTES ESTRUCTURALES DE LA MOLÉCULA BÁSICA DE INMUNOGLOBULINA

Isotipos

Las inmunoglobulinas se clasifican sobre la base de la estructura de las regiones constantes de las ca-

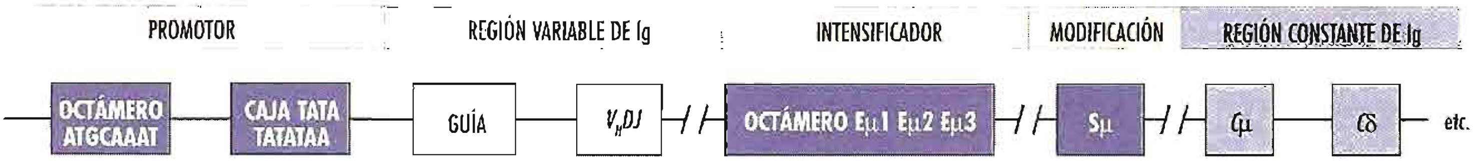

PROMOTOR
REGIÓN VARIABLE DE Ig
INTENSIFICADOR
MODIFICACIÓN
REGIÓN CONSTANTE DE Ig
OCTÁMERO ATGCAAAT
CAJA TATA TATATAA
GUÍA
V_HDJ
OCTÁMERO Eμ1 Eμ2 Eμ3
Sμ
Cμ
Cδ
etc.

Fig. 3-6. Genes que controlan la transcripción de las cadenas pesadas de las inmunoglobulinas. Cada segmento *VDJ* que codifica la región variable se asocia con una secuencia guía. Muy cerca corriente arriba se encuentra la caja TATA del promotor que se fija a la RNA polimerasa II y al motivo octamérico, una de varias secuencias cortas que fijan los factores de transcripción reguladores de la transacción. Los promotores de la región *V* son relativamente inactivos y sólo se asocian con los intensificadores, que también se componen de motivos de secuencias cortas capaces de fijar proteínas nucleares, para incrementar la velocidad de la transcripción hasta niveles típicos de las células B con secreción activa. Los intensificadores se encuentran cerca de las regiones que controlan la modificación de una región constante de una clase de Ig en otra, por ejemplo, de IgM en IgG. Las transcripciones primarias se inician 20 nucleótidos corriente abajo de la caja TATA, y se extienden más allá del extremo de la región constante; son ensamblados, escindidos en el extremo 3' y poliadenilados para generar el mRNA apto para ser traducido.

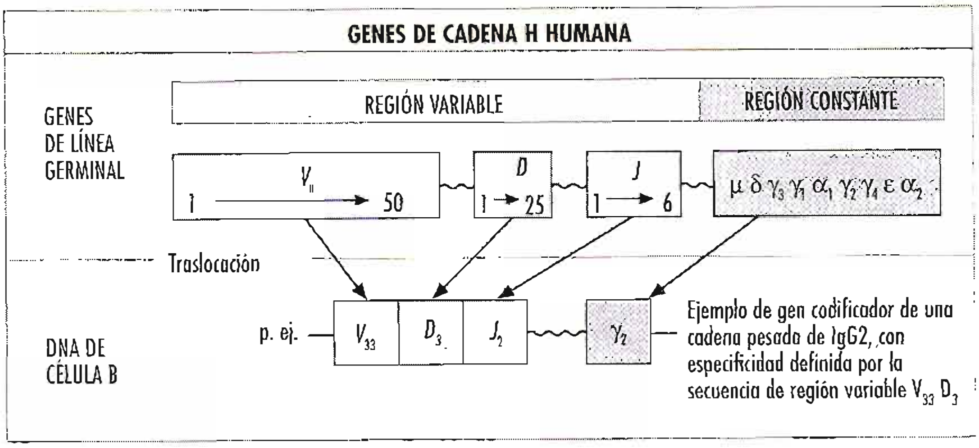
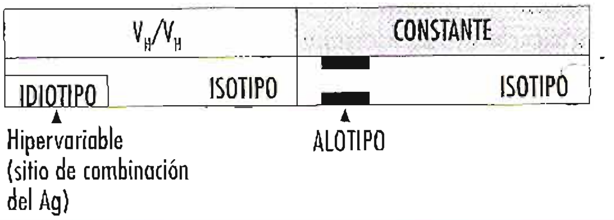

GENES DE CADENA H HUMANA
GENES DE LÍNEA GERMINAL
REGIÓN VARIABLE
REGIÓN CONSTANTE
V_H 1 → 50
D 1 → 25
J 1 → 6
μ δ γ3 γ1 α1 γ2 γ4 ε α2
Traslocación
DNA DE CÉLULA B
p. ej.
V33
D3
J2
γ2
Ejemplo de gen codificador de una cadena pesada de IgG2, con especificidad definida por la secuencia de región variable V33 D3

Fig. 3-7. Genes humanos de la región *V* entremezclados por reordenamiento génico para generar la especificidad exclusiva de cadena pesada característica de cada célula B. Los genes V_H se pueden agrupar en siete familias diferentes (V_H1- V_H7) sobre la base de una homología de secuencias > 80%, donde V_H3 es la más grande. Los miembros de una familia se encuentran esparcidos por todo el locus, es decir, no hay agrupaciones significativas de genes de familias de V_H. Nótense los minigenes adicionales de segmento *D* que se encuentran en el locus de la cadena pesada.

Cuadro 3-1. *Resumen de variantes de inmunglobulinas*


V_H/V_H
CONSTANTE
IDIOTIPO
ISOTIPO
ISOTIPO
Hipervariable (sitio de combinación del Ag)
ALOTIPO

TIPO DE VARIACIÓN	DISTRIBUCIÓN	VARIANTE	UBICACIÓN	EJEMPLOS
ISOTÍPICO	Todas las variantes presentes en el suero de un individuo normal	Clases Subclases Tipos Subgrupos Familias	C_H C_H C_L C_L V_H/V_L	IgM, IgE IgA1, IgA2 κ, λ λO_z^+, λO_z $V_{\kappa I}$ $V_{\kappa II}$ $V_{\kappa III}$ V_{HI} V_{HII} V_{HIII}
ALOTÍPICO	Formas alternativas: con control genético, por lo que no se encuentra en todos los individuos	Alotipos	En su mayoría C_H/C_L a veces V_H/V_L	Grupos Gm (humano) b4, b5, b6, b9 (cadenas livianas de conejo) gh-1^a, Igh-1^b (cadenas pesadas γ_{2a} de ratón)
IDIOTÍPICO	Específico individual para cada molécula de inmunoglobulina	Idiotipos	Regiones variables	Una o más regiones hipervariables que forman el sitio de combinación con el antígeno

denas pesadas en grupos principales denominados **clases**, que se pueden subclasificar en **subclases**. Por ejemplo, en seres humanos hay cinco clases: inmunoglobulina G, (IgG), IgA, IgM, IgD, IgE. Pueden diferenciarse no sólo por sus secuencias, sino también por las estructuras antigénicas a que dan origen. Así, mediante la inyección de proteína IgG de mieloma humano en un conejo es posible obtener un antisuero capaz de ser absorbido por mezclas de mielomas de otras clases para eliminar anticuerpos de reacciones cruzadas, y que entonces podrán reaccionar con IgG, pero no con IgA, IgM, IgD o IgE (fig. 3-9).

Dado que todas las estructuras de la región constante de las cadenas pesadas (C_H) que dan origen a las clases y subclases se expresan juntas en el suero de un sujeto normal, también se las denomina **variantes isotípicas** (cuadro 3-1). De modo similar, las regiones constantes de las cadenas livianas (C_L) se encuentran en formas isotípicas denominadas κ y λ, que se asocian con todos los isotipos de las cadenas pesadas. Dado que las cadenas livianas de determi-

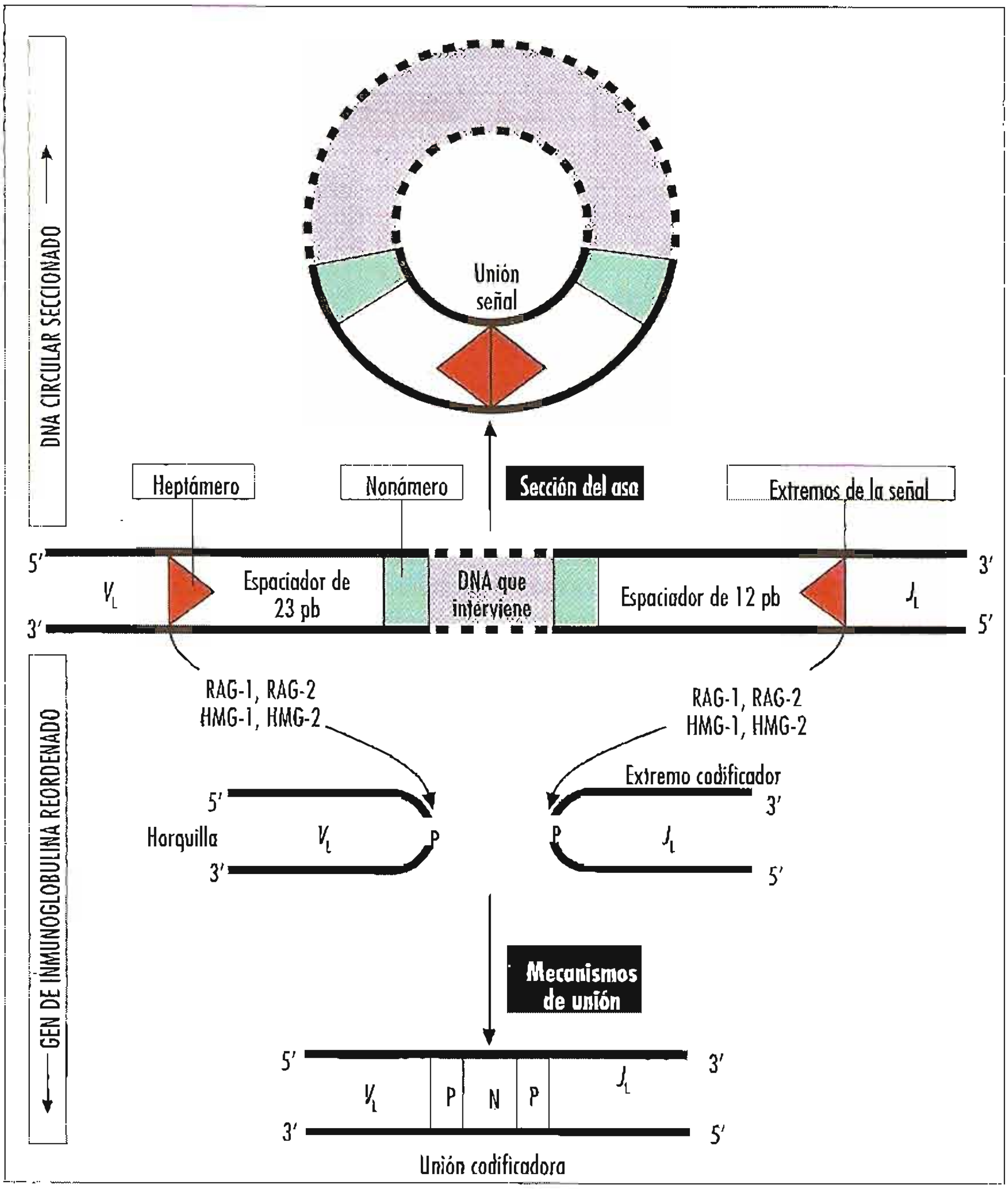

DNA CIRCULAR SECCIONADO
GEN DE INMUNOGLOBULINA REORDENADO
Unión señal
Heptámero
Nonámero
Sección del asa
Extremos de la señal
5'
3'
V_L
Espaciador de 23 pb
DNA que interviene
Espaciador de 12 pb
J_L
3'
5'
RAG-1, RAG-2
HMG-1, HMG-2
RAG-1, RAG-2
HMG-1, HMG-2
Extremo codificador
5'
Horquilla
V_L
P
3'
3'
P
J_L
5'
Mecanismos de unión
5'
V_L
P
N
P
J_L
3'
3'
5'
Unión codificadora

Fig. 3-8. La unión de los segmentos *V, D* y *J*. La unión es dirigida por los genes activadores de la recombinación *RAG-1* y *RAG-2*, cuyos productos clivan el DNA en los extremos señal. En conjunto, RAG-1 y RAG-2 producen la recombinación de *VDJ* en forma varias miles de veces más eficiente que cualquiera de ellos aislado. Los intrones adyacentes a los segmentos de genes *V, D* y *J* contienen **secuencias señal de recombinación** (RSS) especializadas entre los que se incluyen heptámeros y nonámeros conservados y separados por espaciadores de 12 o 23 pares de bases. Los dos segmentos que se unen, en este ejemplo V_L y J_L, se acercan debido a la interacción entre sus respectivos RSS, mediados por la flexión del DNA y la formación de asas de las proteínas con alta movilidad de los grupos 1 y 2 (HMG-1 y HMG-2). RAG-1 y RAG-2 clivan el DNA para producir espacios bicatenarios en el borde de la RSS. Las secuencias señal extraídas se ligan para generar la unión de señal que forma una pieza de DNA circular con las secuencias seccionadas. Es probable que se mantenga en la célula durante cierto período, hasta que por último se elimina. Las hebras dobles de cada segmento codificador forman extremos "en horquilla". La enzima Ku (un dímero de Ku70 y Ku86) se une a los extremos del DNA y estimula la proteincinasa dependiente de DNA (DNA-PK, cuya mutación da origen a ratones con inmunodeficiencia severa combinada –SCID–), lo que facilita la apertura de la horquilla. La desoxinucleotidiltransferasa terminal (TdT) agrega nucleótidos en los extremos de las hebras de DNA con el fin de generar diversidad de la región N. A diferencia de la precisión de la unión señal, la unión codificadora es variable debido a que puede intervenir en el agregado de pares de bases que tiene lugar con la resolución del asa de la horquilla (elementos P) y la diversidad de la región N mediada por TdT. Las nucleasas eliminan los nucleótidos en exceso y las polimerasas llenan los espacios antes de que las enzimas DNA ligasa IV y XRCC4 efectúen la ligadura de las dos secuencias. Dado que los elementos codificadores se unen al azar respecto de los marcos de lectura, dos de tres procesos tienen dos elementos codificadores fuera del marco. Si bien en apariencia representa un desperdicio, se tolera en la evolución dado que confiere beneficios importantes bajo la forma de diversidad del receptor de antígeno. Los productos de recombinación de *VDJ* definen los dominios principales fijadores del antígeno.

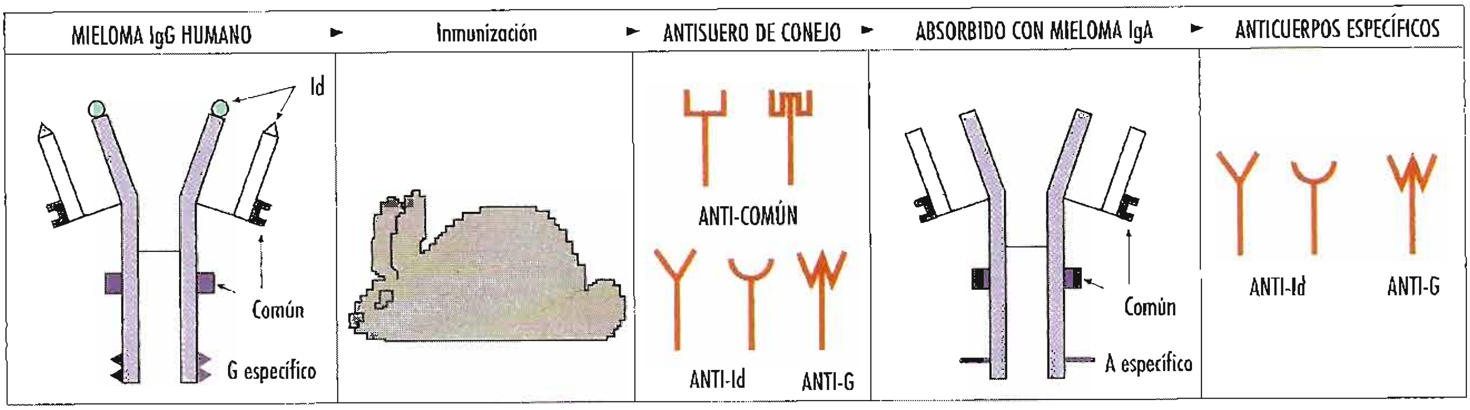


Fig. 3-9. Cómo utilizar proteínas monoclonales de mieloma para elaborar anticuerpos específicos para distintas estructuras Ig. El conejo elabora anticuerpos dirigidos contra distintas partes de la Ig de mieloma humano. Los anticuerpos contra esas partes que son comunes a otras clases de Ig pueden extraerse mediante mielomas de esas clases, para dejar que otros anticuerpos reaccionen con las estructuras G específica de clase y específica de región variable (idiotipo = Id) sobre la molécula original. Del mismo modo, la absorción posterior con otros mielomas IgG extraerá los anticuerpos comunes específicos de IgG y quedará un antisuero dirigido sólo contra los determinantes idiotípicos. (En afán de simplificar se ignoraron las subclases y los alotipos, pero se pueden extender los mismos principios a la generación de antisueros específicos para esas variantes.) El conejo elabora una mezcla de anticuerpos policlonales dirigidos contra cada sitio estructural sobre el antígeno, es decir, producidos por clones derivados de diversas células progenitoras específicas de antígeno, cada una de las cuales interviene en una reacción estereoquímica ligeramente diferente con la misma estructura (véase pág. 67).

nado anticuerpo son idénticas, las inmunoglobulinas son κ o λ, pero nunca una mezcla. Así, IgG existe como IgGκ o IgGλ, IgM como IgMκ o IgMλ, etc.

Alotipos

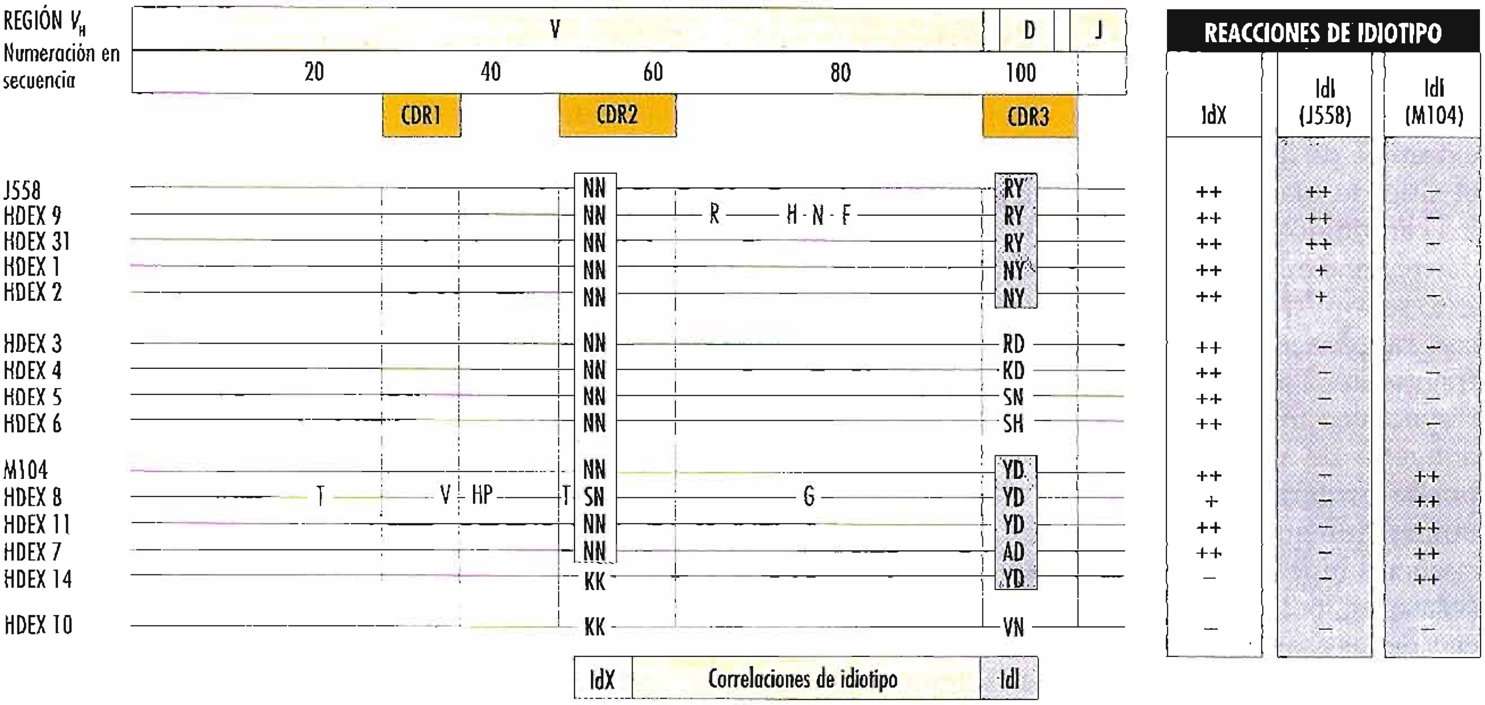
Este tipo de variación depende de la existencia de formas alélicas (codificadas por alelos o genes alternativos en un solo sitio), por lo que proporcionan marcadores genéticos (cuadro 3-1). De modo similar a como difieren los eritrocitos de personas genéticamente distintas en los términos del sistema de antígenos del grupo sanguíneo A, B, O, así las cadenas pesadas de Ig difieren en la expresión de sus grupos alotípicos. Las **especificidades Gm** son alotipos típicos de IgG (Gm = *marcador* de IgG). En las diferencias alotípicas de determinado locus Gm por lo general intervienen uno o dos aminoácidos de la cadena peptídica. Tómese por ejemplo el locus G1m(a) de la IgG1 (cuadro 3-1). Una persona con este alotipo tendría la secuencia peptídica Asp.Glu.Leu.Thr.Lys en cada una de sus moléculas de IgG1. Una persona que posea el alotipo a-negativo tendría la secuencia Glu.Glu.Met.Thr.Lys, es decir, con dos aminoácidos de diferencia. Hasta el presente se hallaron 20 grupos Gm en las cadenas pesadas γ y tres más (los grupos Km, antes denominados Inv) en la región constante κ.

Al igual que en otros sistemas alélicos, los individuos pueden ser homocigotos o heterocigotos para los genes que codifican los marcadores, que expresan codominancia y se heredan en forma mendeliana simple. Por ejemplo, si se toman los alotipos b4, b5 de las cadenas livianas de conejo, un animal con genotipo *b4b4* expresaría el alotipo b4, mientras que un conejo con genotipo *b4b5*, derivado de progenitores *b4b4* y *b5b5*, expresaría el marcador b4 en una fracción de sus moléculas de inmunoglobulina, y b5 en otra fracción.

Idiotipos

Ya se vio que es posible obtener anticuerpos que reconozcan variantes isotípicas y alotípicas; también se pueden generar anticuerpos específicos para moléculas de anticuerpo aisladas y discriminar entre uno y otro anticuerpo monoclonal, con independencia de las estructuras isotípicas o alotípicas (fig. 3-9). Estos antisueros definen los determinantes individuales característicos de cada anticuerpo, denominados en conjunto el **idiotipo** (Kunkel y Oudin). No debe sorprender que los determinantes idiotípicos se encuentren en la parte variable del anticuerpo asociada con las regiones hipervariables (fig. 3-10).

Se dice que los antiidiotipos que reaccionan con un anticuerpo y no con otros reconocen idiotipos **privados** y proporcionan una base adicional para el concepto de que cada anticuerpo tiene una es-



	IdX	IdI (J558)	IdI (M104)
J558	++	++	–
HDEX 9	++	++	–
HDEX 31	++	++	–
HDEX 1	++	+	–
HDEX 2	++	+	–
HDEX 3	++	–	–
HDEX 4	++	–	–
HDEX 5	++	–	–
HDEX 6	++	–	–
M104	++	–	++
HDEX 8	+	–	++
HDEX 11	++	–	++
HDEX 7	++	–	++
HDEX 14	–	–	++
HDEX 10	–	–	–

Fig. 3-10. Correlaciones estructurales de idiótopos (determinantes individuales sobre un idiotipo) en anticuerpos antidextrano. Se muestran las secuencias de aminoácidos de las regiones de las cadenas pesadas variables en anticuerpos antidextrano monoclonales de ratón. Todos los anticuerpos poseen cadenas L λ_1. Las líneas horizontales indican la identidad con la secuencia de la primera proteína, J558; las letras (código de Dayhoff) muestran las diferencias o regiones correlacionadas con idiótopos (zonas centrales en recuadro). El idiótopo de reacción cruzada (IdX) se asocia con las estructuras de la segunda región determinante de complementariedad (CDR2), mientras que los idiótopos privados (IdI) son característicos de la región CDR3 en estos anticuerpos. La presencia de los idiótopos sobre cada molécula de anticuerpo se evalúa mediante la reacción con el antisuero específico para IdX, J558 IdI y M104 IdI (sobre la derecha). Los idiótopos de reacción cruzada también pueden estar asociados con la región CDR3 de otros sistemas. Los recuadros a cada lado del segmento D representan la diversidad de la región N y los elementos P. (Reproducido de Davie JM et al [1986] *Annual Review of Immunology* 4, 147, con autorización. © de Annual Reviews Inc.)

tructura exclusiva. A menudo las moléculas de anticuerpo de estructura de aminoácidos muy similar además pueden compartir idiotipos (p. ej., M104 y HDEX 2 en la fig. 3-10), por lo que se habla entonces de idiotipos **públicos** o de **reacción cruzada**.

Los sueros antiidiotípicos proporcionan reactivos útiles para demostrar la misma región V en distintas cadenas pesadas y en diferentes células, e identificar complejos inmunes específicos en los sueros de pacientes con el fin de reconocer amiloide tipo V_L en los sujetos que excretan proteínas de Bence-Jones, para detectar proteína monoclonal residual tras la terapéutica y quizá para seleccionar linfocitos con determinados receptores de superficie. Los lectores se sorprenderán (o deberían hacerlo) de saber que es posible generar sueros autoantiidiotípicos, lo que implica que los individuos pueden producir anticuerpos contra sus propios idiotipos. Esto tiene consecuencias notables, como se verá al estudiar la teoría reticular de Jerne, en el capítulo 11.

LAS INMUNOGLOBULINAS SE PLIEGAN EN DOMINIOS GLOBULARES CON DISTINTAS FUNCIONES

Los dominios de las inmunoglobulinas tienen una estructura característica

Además de los enlaces disulfuro *intercatenarios* que demostró Edelman como unión entre las cadenas livianas y pesadas, hay enlaces disulfuro *intracatenarios* que estabilizan cada uno de los **dominios** globulares de las **inmunoglobulinas** (fig. 3-11). Cada dominio posee una estructura de lámina beta característica y comprende unos 110 aminoácidos, de los cuales 65-70 se encuentran entre las dos cisteínas que forman el enlace disulfuro intracatenario de cada dominio (véase fig. 3-13a). Es significativo que las secuencias hipervariables aparezcan en un extremo del dominio variable, donde forman parte de las asas de giro beta y se encuentren agrupadas muy juntas en un espacio reducido.

El dominio variable fija el antígeno

La agrupación de las asas hipervariables en los extremos de las regiones variables, donde se ubica el sitio de fijación del antígeno, los transforma en los candidatos obvios para llevar a cabo la función de reconocimiento del antígeno (figs. 3-11 y 3-12). Esto se confirmó mediante el análisis cristalográfico con rayos X de los complejos formados entre los fragmentos Fab de anticuerpos monoclonales y sus respectivos antígenos. De hecho, la especificidad de antígeno de un anticuerpo monoclonal de ratón puede conferirse en una molécula de inmunoglobulina humana mediante el reemplazo de las secuencias hipervariables humanas por las del ratón (véase fig. 6-21). La heterogeneidad de las secuencias de las asas hipervariables de las tres cadenas livianas y las tres cadenas pesadas asegura una notable diversidad de especificidad de combinación para el antígeno por medio de variaciones en la forma y la naturaleza de la superficie creadas. Así, cada región hipervariable se puede considerar como una estructura independiente que contribuye con la complementariedad del sitio de unión para el antígeno, y se habla de **regiones determinantes de la complementariedad (CDR)**.

Ciertos experimentos en los que se analizaron cadenas aisladas para determinar su poder de combinación con el antígeno sugieren que estas regiones variables de cadenas livianas y pesadas contribuyen con la especificidad del anticuerpo. En general, con las cadenas pesadas se asocian grados variables de actividad residual, mientras que ésta es relativamente escasa en las cadenas livianas; de todos modos, en la recombinación siempre hay un incremento significativo de la capacidad de fijación del antígeno. Es interesante destacar que la mayoría de las inmunoglobulinas de llamas y camellos carecen de cadenas livianas, aunque esto no parece causarles inconvenientes.

Los dominios de las regiones constantes determinan la función biológica secundaria

Las clases de anticuerpos difieren entre sí en muchos aspectos: su vida media, su distribución en el organismo, su capacidad para fijar el complemento y su capacidad para fijarse a los receptores Fc de la superficie celular. Dado que todas las clases poseen iguales cadenas livianas κ y λ, y dominios de regiones variables pesadas y livianas, las diferencias deben estar en las regiones constantes de las cadenas pesadas.

Estas actividades biológicas (funciones efectoras) se ubicaron en principio en los diversos dominios de las cadenas pesadas mediante el uso de proteínas de mieloma que presentaban eliminación espontánea de dominios, o fragmentos enzimáticos obtenidos con papaína –que genera fragmentos Fab y Fc– o pepsina –que genera $F(ab')_2$ y pFc'(la porción C terminal de Fc–. En época más reciente, en muchos casos se identificaron los aminoácidos críticos que intervienen en cada una de las funciones, mediante el uso de mutagénesis específica de sitio.

En la figura 3-13b se presenta un modelo de la molécula de IgG, que muestra la disposición espacial y las interacciones entre los dominios de IgG, mientras que la figura 3-13c adscribe las diversas funciones biológicas a las estructuras relevantes. En principio, los dominios de la región V conforman la unidad de reconocimiento (véase fig. 2-1), mientras que los dominios de la región constante median las funciones biológicas secundarias.

Es conveniente que la IgG tenga elevado grado de flexibilidad, para que los brazos Fab dispongan de libertad para moverse y retorcerse, y así puedan alinear sus regiones hipervariables con los sitios antigénicos sobre grandes portadores inmóviles, y para permitir que las estructuras Fc se ajusten en el espacio con la finalidad de desencadenar sus funciones efectoras; y es lo que se observa en la figura 3-13d. En el análisis estructural se demuestra que el Fab puede formar un codo en la unión V-C y girar sobre la bisagra, lo que en sí puede describirse mejor como una *traba floja*, y así permitir que Fab y Fc presenten cierto desplazamiento relativo, bastante libre (véase fig. 3-1). Podría indicarse que este tipo de movimientos la transforman en una molécula muy sensual.

CLASES Y SUBCLASES DE INMUNOGLOBULINAS

En los cuadros 3-2 y 3-3 se resumen las características físicas y biológicas de las cinco clases principales de inmunoglobulinas humanas. Los siguientes comentarios tienen por finalidad complementar esta información.

La inmunoglobulina G desempeña funciones importantes, pero variables, en las defensas extracelulares

Debido a su relativa abundancia en la circulación y en la mayoría de los tejidos, la capacidad para desarrollar una fijación con el antígeno de elevada afinidad, y el amplio espectro de sus propiedades bio-

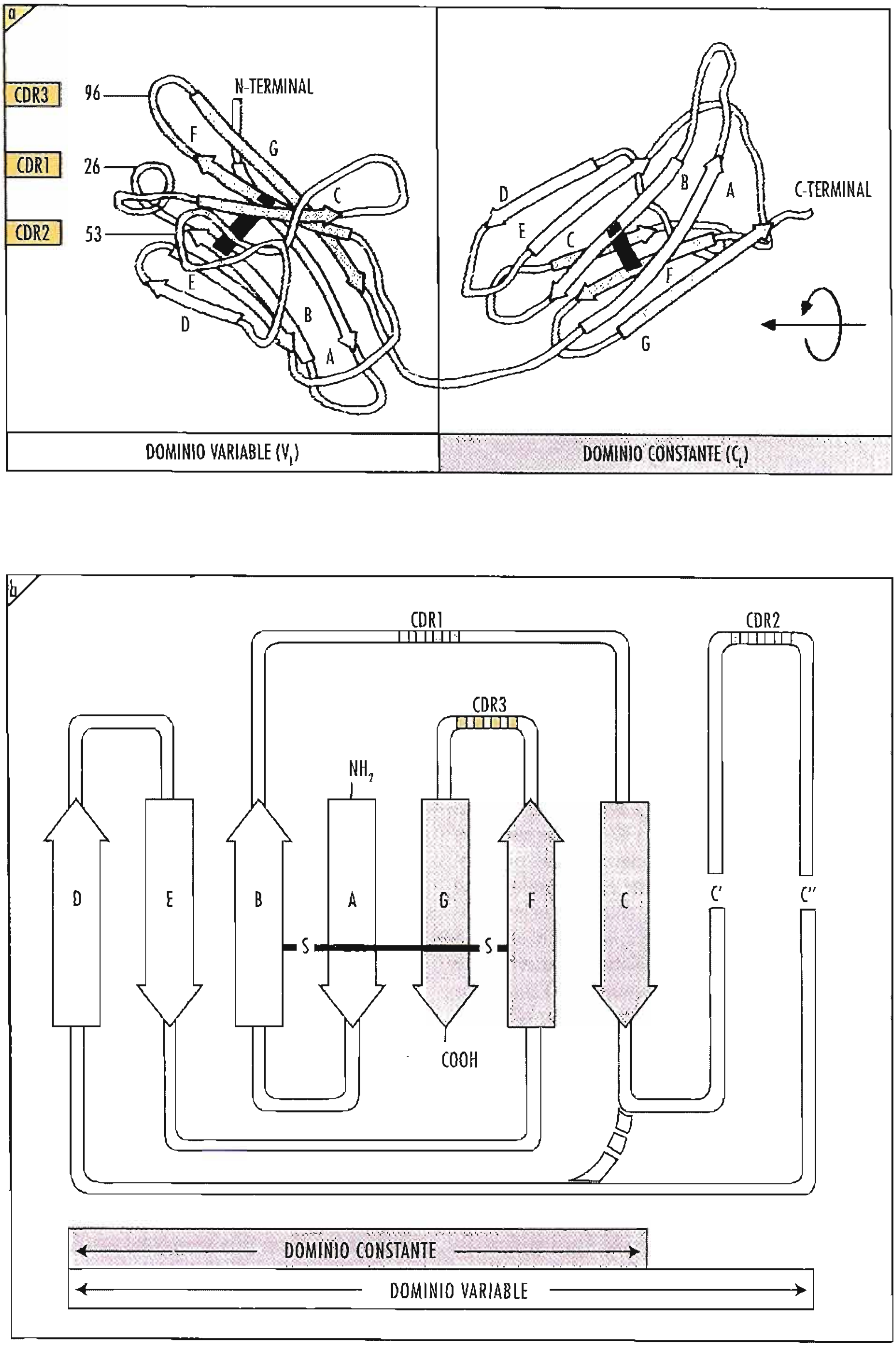


Fig. 3-11. Estructura de los dominios de Ig. a) Estructura de los dominios globulares de una cadena liviana (a partir de estudios por cristalografía de rayos X de una proteína de Bence-Jones realizados por Schiffler et al [1973] *Biochemistry* 12,4620). En esencia, una superficie de cada dominio se compone de cuatro hebras (flechas azul claro) dispuestas en una estructura en lámina beta antiparalela estabilizada por enlaces H intercatenarios entre los grupos CO· y NH· amídicos que se encuentran a lo largo de la cadena vertebral peptídica, y la otra superficie de una segunda lámina beta de tres hebras (flechas azul más oscuro); la barra negra representa el enlace disulfuro intracatenario. Esta estructura es característica de todos los dominios de las inmunoglobulinas. Tiene particular interés la ubicación de las regiones hipervariables (▨) en tres asas distintas que se disponen muy cerca una de otra y conforman la contribución de la cadena liviana al sitio de fijación del antígeno (véase fig. 3-12). Se detecta un residuo numerado de cada región determinante de complementariedad. Para generar un fragmento Fab (véase parte izquierda de la fig. 3-13d), hay que imaginar un segmento V_H-C_H1 similar al V_L-C_L del diagrama, rotarlo 180° alrededor del eje de la flecha de la derecha de la figura y ubicarlo sobre el segmento V_L-C_L (Dr. A. Feinstein). **b**) Vista esquemática del patrón de plegamiento de los dominios constante y variable de la cadena liviana, que muestra las hebras beta (A-G). La secuencia adicional C'C'' de la estructura variable incluye la región CDR2, y en algunas secuencias de la región variable tienen lugar patrones de enlaces H que generan dos hebras beta adicionales, por lo que se observa una lámina beta pentacatenaria en lugar de una tricatenaria. Las letras y los colores son iguales que en a).

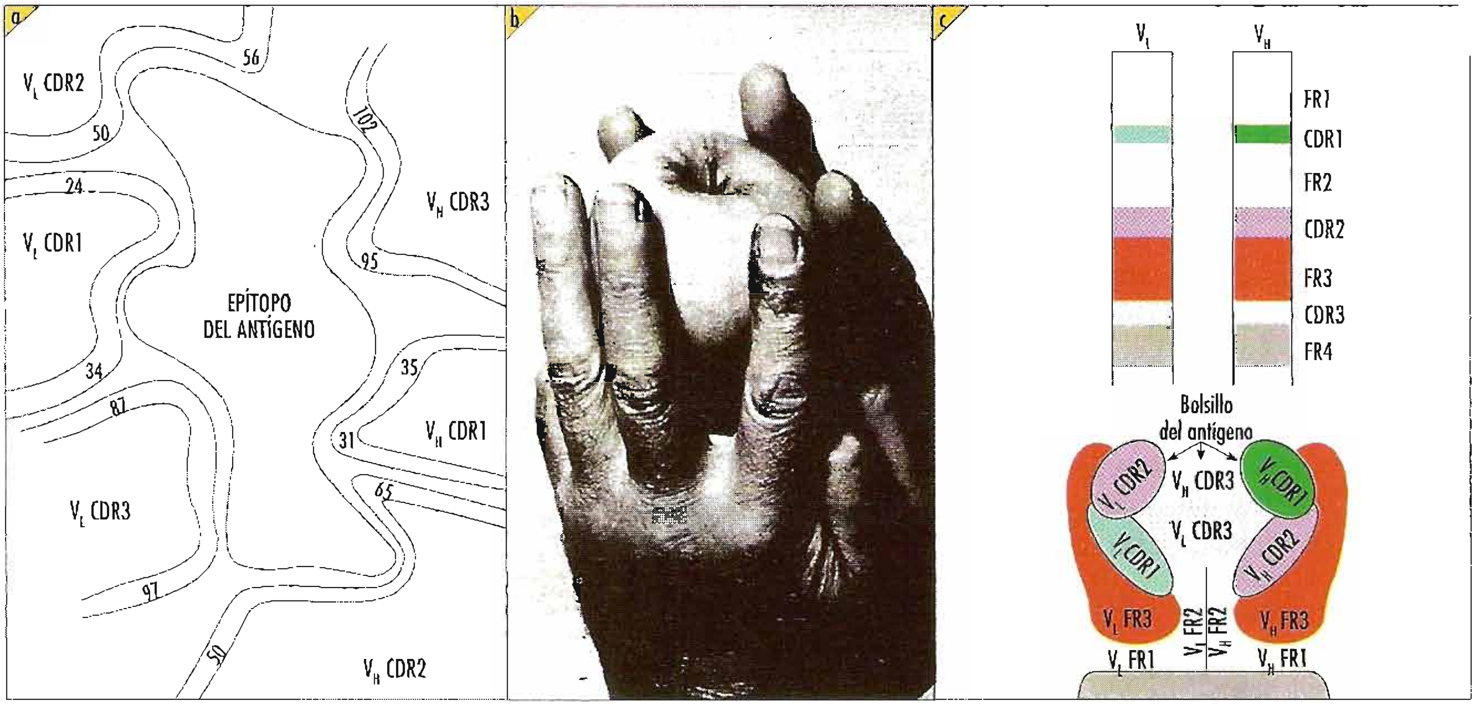


Fig. 3-12. El sitio de unión. a) Representación bidimensional idealizada de un sitio de fijación del antígeno formado por aposición espacial de asas polipeptídicas que contienen las regiones hipervariables de las cadenas livianas y pesadas. Los números se refieren a los retos de aminoácidos. En la cadena pesada, CDR1 se compone de los aminoácidos 31-35, CDR2 por los 50-65 y CDR3 por los 95-102. En la cadena liviana, CDR1 se encuentra en la posición 24-34, CDR2 en 50-56 y CDR3 en 87-97. Los residuos de glicina casi siempre se encuentran en determinadas posiciones en el CDR o a su alrededor, lo que permite el plegamiento de las cadenas polipeptídicas y la formación de estructuras en láminas beta, que permiten que las regiones hipervariables estén muy cercanas entre sí (fig. 3-11a). Wu y Kabat sugirieron que la flexibilidad del ángulo de unión de este aminoácido contribuye con la formación eficaz de un sitio de unión. Al usar distintas combinaciones de regiones hipervariables y diferentes residuos dentro de cada una de estas regiones, cada molécula de anticuerpo puede formar un complejo con una amplia variedad de determinantes antigénicos (con variedad comparable de afinidades). b) Representación del sitio de combinación de un hapteno, simulado por la aposición de los tres dedos medios de cada mano, donde cada uno representa un asa hipervariable. Por lo general, la zona de contacto es mayor con los epítopos proteicos y tiende a afectar mayor cantidad de restos de superficie (véase fig. 5-5). Parece haber un pequeño repertorio de conformaciones de cadenas principales para al menos cinco de los seis CDR, y la configuración particular adoptada está determinada por unos pocos residuos clave conservados (Chothia C, et al [1989] *Nature* **342**, 877). (Fotografía de B.N.A. Rice; inspirada por A. Munro.) c) Modelo espacial idealizado que muestra las ubicaciones relativas de las seis asas CDR (según Silverman GJ [1994] *The Immunologist* 2, 52, con autorización.)

lógicas secundarias, la IgG es el principal caballo de batalla del "establo" de las Ig. Junto con la IgA, es la inmunoglobulina más importante sintetizada durante la respuesta secundaria. Dado que la IgG difunde con mayor facilidad que las demás inmunoglobulinas hacia los espacios extravasculares corporales, es la especie predominante en los tejidos no mucosos, donde carga con la mayor reponsabilidad en la neutralización de las toxinas bacterianas y en la fijación de microorganismos para facilitar la fagocitosis.

Activación de la vía clásica del complemento

Los complejos compuestos por la bacteria y el anticuerpo IgG desencadenan la formación de complejo C1 cuando un mínimo de dos regiones Fcγ del complejo se unen a C1q (véase fig. 2-2). Como se muestra con la mutagénesis específica de sitio del dominio Cγ2, el motivo central común para la fijación a C1q es Glu.318-X-Lys.320-X-Lys.322, donde puede variar X, el resto que separa estos aminoácidos cargados. En concordancia con este análisis reconforta destacar que los péptidos sintéticos con esta estructura pueden bloquear la fijación de C1q a IgG. La activación del próximo componente, C4, tiende a producir la adhesión de C4b al dominio Cγ1. A continuación se observa la formación de C3 convertasa, el acoplamiento covalente de C3b a la bacteria y la liberación de C3a y C5a, que inducen la atracción quimiotáctica de las células fagocíticas polimorfonucleares (véase pág. 2) con el fin de adherirse a la bacteria por medio de receptores de superficie para el complemento y la porción Fc de IgG (Fcγ), y luego ingerir los microorganismos por fagocitosis. De modo similar, la destrucción extracelular de las células blanco recubiertas por anticuerpo IgG es mediada en gran parte por el reconocimiento del Fcγ de

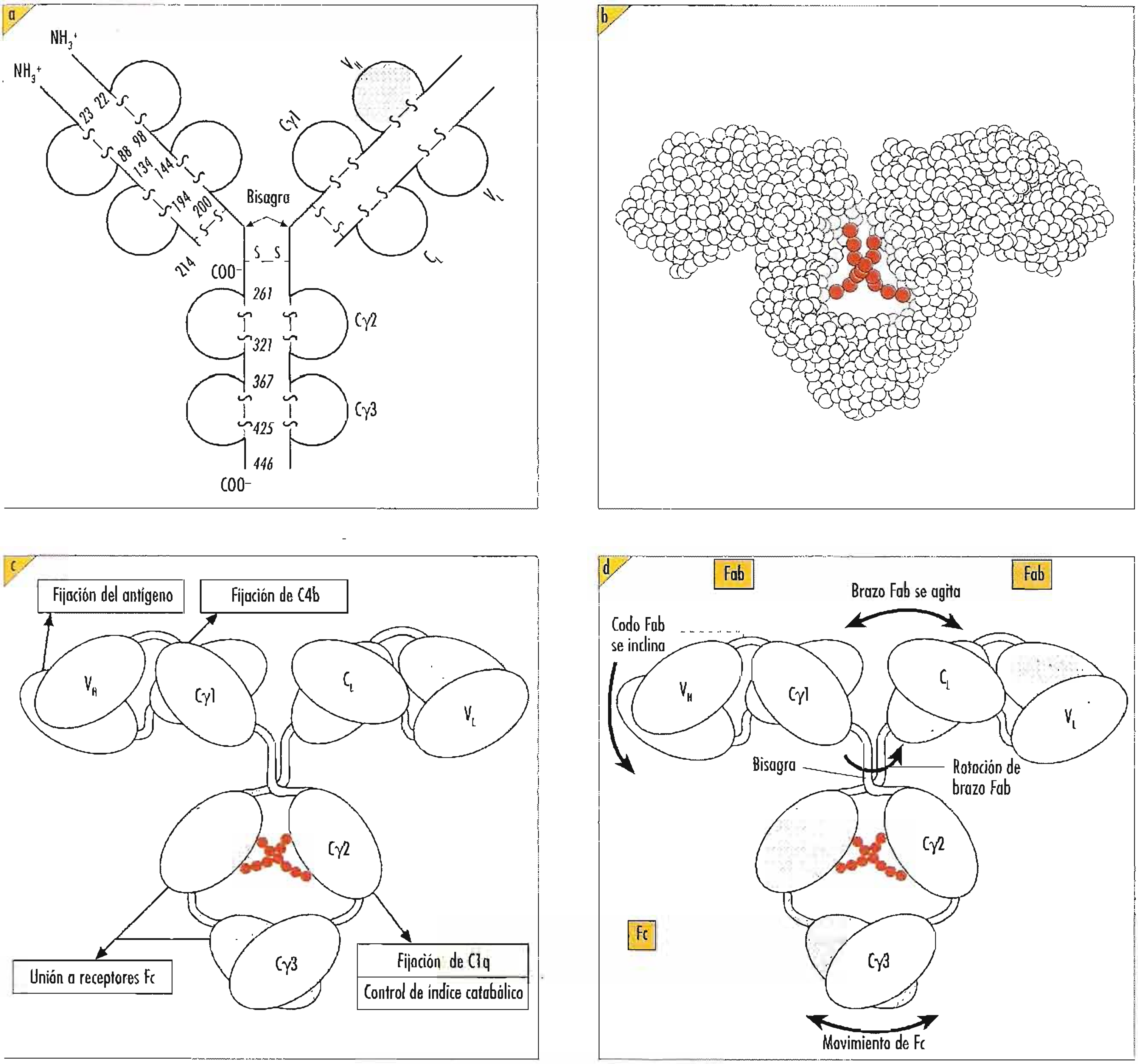

a
NH3+
NH3+
23
22
88
98
134
144
194
200
214
COO-
Bisagra
S_S
261
321
367
425
446
COO-
VH
Cγ1
VL
CL
Cγ2
Cγ3
b
c
Fijación del antígeno
Fijación de C4b
VH
Cγ1
CL
VL
Cγ2
Cγ3
Unión a receptores Fc
Fijación de C1q
Control de índice catabólico
d
Fab
Fab
Brazo Fab se agita
Codo Fab se inclina
VH
Cγ1
CL
VL
Bisagra
Rotación de brazo Fab
Cγ2
Fc
Cγ3
Movimiento de Fc

Fig. 3-13. **Disposición, interacción y propiedades biológicas de los dominios de Ig en IgG. a)** Representación estilizada de IgG que muestra las posiciones típicas de los enlaces disulfuro intracatenarios e intercatenarios, y la ubicación de la región bisagra. La cantidad de enlaces disulfuro entre las cadenas pesadas varía con la subclase de IgG; si bien a los efectos de simplicidad sólo se muestra uno, en realidad hay dos en IgG1 e IgG4, cuatro en IgG2 y 11 en IgG3. **b)** Modelo de IgG generado por computadora. Se muestra una cadena pesada en azul claro, la otra en azul más oscuro y las cadenas livianas en gris. El hidrato de carbono unido a los dominios Cγ2, y que los separa, aparece en color rojo. La molécula analizada es un mutante con una región bisagra truncada, dado que la flexibilidad asociada con la bisagra –véase **d)** más adelante– torna poco claras las imágenes de rayos X y por lo tanto difíciles de interpretar. [La estructura fue determinada por Silverton EW, Navia MA y Davies J.R. (1977) *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 74 5140, y la figura se generó por gráfica computarizada mediante el sistema de RJ Feldman (National Institute of Health).] **c)** Diagrama basado en el modelo que muestra la ubicación de los dominios con función biológica. Los dominios combinados Cγ2 y Cγ3 se unen a los receptores Fc sobre las células fagocíticas, las células NK y el sincitiotrofoblasto placentario, además de la proteína A estafilocócica. (Nótese que la cadena pesada de IgG se denomina γ, y los dominios de las regiones constantes, Cγ1, Cγ2 y Cγ3.) **d)** Diagrama que muestra la flexibilidad de IgG (véase Brekke OH et al. [1995] *Immunology Today* 16, 85) y los dominios en aposición que están en contacto a través de las regiones hidrófobas (según el doctor A Feinstein). Las estructuras de estos armazones de contacto están muy conservadas, lo que constituye una propiedad esencial si van a asociar distintos dominios V_H y V_L con el fin de generar una amplia variedad de especificidades de anticuerpo. Estas regiones hidrófobas sobre los dos dominios C_H2 (Cγ2) fijadores del complemento están enmascaradas en parte por hidrato de carbono y permanecen independientes, por lo que permiten la formación de una región bisagra que es en extremo flexible respecto de la variación del ángulo de los fragmentos Fab (agitación) y de sus rotaciones respecto de la cadena peptídica bisagra. Esta flexibilidad permite la adaptación rápida de los sitios de combinación sobre IgG frente a las variaciones espaciales en la presentación de los epítopos antigénicos; el movimiento de Fc permite una orientación óptima de los receptores sobre las células efectoras.

Cuadro 3-2. *Propiedades físicas de las principales clases de inmunoglobulinas humanas*

DENOMINACIÓN	IgG	IgA	IgM	IgD	IgE
Coeficiente de sedimentación	7S	7S, 9S, 11S*	19S	7S	8S
Peso molecular	150.000	160.000 y dímero	970.000	175.000	190.000
Cantidad de unidades tetrapeptídicas básicas	1	1, 2*	5	1	1
Cadenas pesadas	γ	α	μ	δ	ε
Cadenas livianas	κ o λ	κ o λ	κ o λ	κ o λ	κ o λ
Fórmula molecular†	$\gamma_2\kappa_2$, $\gamma_2\lambda_2$	$(\alpha_2\kappa_2)_{1\text{-}2}$ $(\alpha_2\lambda_2)_{1\text{-}2}$ $(\alpha_2\kappa_2)_2S^*$ $(\alpha_2\lambda_2)_2S^*$	$(\mu_2\kappa_2)_5$ $(\mu_2\lambda_2)_5$	$\delta_2\kappa_2$ ¿$\delta_2\lambda_2$?	$\varepsilon_2\kappa_2$, $\varepsilon_2\lambda_2$
Valencia para la unión con el antígeno	2	2, 4	5 (10)	2	2
Límites de concentración en suero normal	8-16 mg/mL	1,4-4 mg/mL	0,5-2 mg/mL	0,003-0,04 mg/mL	17-450 ng/mL‡
% del total de inmunoglobulinas	75	15	5-10	0-1	0,002
% de contenido de hidratos de carbono	3	8	12	9	12

*7S monómero, 9S dímero y 11S trímero en secreciones externas que contienen componentes secretores (S).
† Dímero IgA e IgM contienen cadena J.
‡ ng = 10^{-9} g.

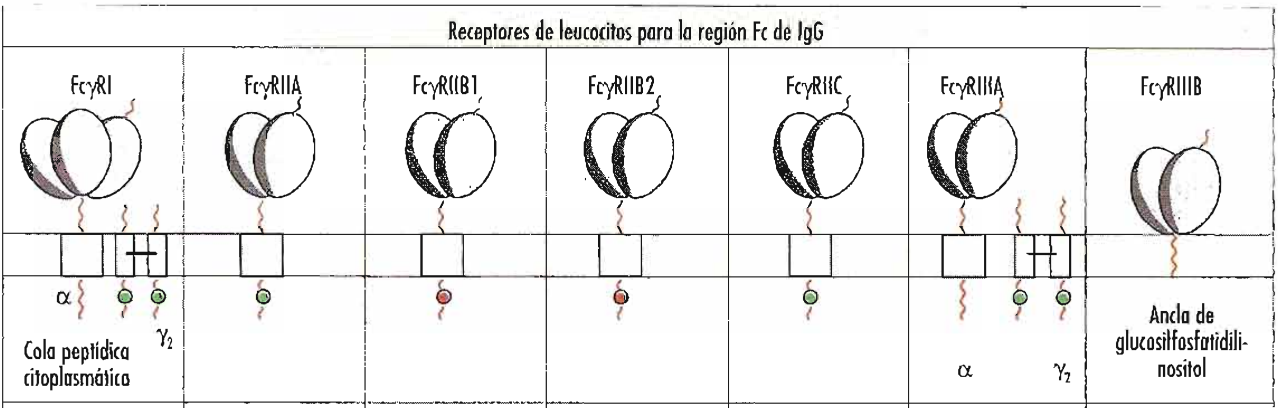
Cuadro 3-3. *Propiedades biológicas de las principales clases de inmunoglobulinas en seres humanos*

	IgG	IgA	IgM	IgD	IgE
Características principales	Ig más abundante en los líquidos corporales internos, sobre todo extravasculares, donde combate microorganismos y sus toxinas	Principal Ig en secreciones seromucosas, donde defiende las superficies externas del cuerpo	Aglutinador muy eficaz; producido al inicio de la respuesta inmune, defensa de primera línea efectiva contra la bacteriemia	Presente sobre todo en la superficie de los linfocitos	Protege las superficies externas del organismo. Recluta agentes antimicrobianos. Se eleva en infestaciones parasitarias. Responsable de los síntomas de alergia
Fijación del complemento					
Clásica	++	–	+++	–	–
Alternativa	–	+	–	–	–
Atraviesa la placenta	++	–	–	–	–
Sensibiliza mastocitos y basófilos	–	–	–	–	+++
Se fija a macrófagos y polimorfonucleares	+++	+	–	–	+

superficie por las células NK (natural killer) portadoras de los receptores adecuados (véase pág. 19). La tesis que postula que la **individualidad biológica de las distintas clases de inmunoglobulina depende de las regiones constantes de la cadena pesada, en particular el Fc,** se aplica con amplitud a las relaciones con actividades como el pasaje transplacentario, la fijación del complemento y la fijación a diversos tipos celulares, donde se demostró que la función es mediada por la parte Fc de la molécula.

Diversidad de los receptores Fcγ

Dado que se identificaron diversas interacciones entre los complejos de IgG y distintas células


Receptores de leucocitos para la región Fc de IgG
FcγRI
FcγRIIA
FcγRIIB1
FcγRIIB2
FcγRIIC
FcγRIIIA
FcγRIIIB
α
γ_2
Cola peptídica citoplasmática
α
γ_2
Ancla de glucosilfosfatidilinositol

	FcγRI	FcγRIIA	FcγRIIB1	FcγRIIB2	FcγRIIC	FcγRIIIA	FcγRIIIB
Afinidad (M^{-1})	al 10^9	ba $< 10^7$	ba $< 10^7$	ba $< 10^7$	ba $< 10^7$	med 3×10^7	ba $< 10^7$
Fija IgG monomérico	++	–	–	–	–	–	–
Fija IgG agregado	+++	++	++	++	++	++	++
Presente en:							
Monocitos	+	+	–	+	–	i	–
Macrófagos	+	+	–	+	–	+	–
Células dendríticas	+	+	–	+	–	+	–
Neutrófilos	i	+	–	+	–	+	+
Eosinófilos	i	+	–	+	–	+	–
Células NK	–	–	–	–	+	+	–
Células B	–	–	+	+	–	+	–
Mastocitos	–	–	+	+	–	+	–

Fig. 3-14. Estructuras y características de los receptores de superficie de los leucocitos para las regiones Fc de las IgG. Barras = puentes disulfuro; i = inducible. Si bien se describieron tres genes distintos y varias transcripciones diferentes para el FcγRI, sólo en uno de ellos, la transcripción FcγRIA, se demostró en forma convincente la producción de una proteína FcγRI. Ésta posee tres dominios similares a los de las inmunoglobulinas y proporciona una fijación con mayor afinidad para IgG que los demás tipos de FcγRI, que sólo poseen dos dominios similares a la inmunoglobulina. Las evidencias recientes sugieren que FcγRI también puede fijar proteína C reactiva. Además hay otros tres genes para el FcγRII de baja afinidad, todos codificadores de proteínas, que debido a las variaciones de ensamblaje en conjunto elaboran un total de seis isoformas expresas de FcγRII. Cada una posee dos dominios similares a los de las inmunoglobulinas; pero tienen diversos dominios citoplasmáticos con motivos de señalización. Además, la isoforma FcγRIIA exhibe polimorfismo genético, con histidina o arginina en la posición 131, lo cual influye sobre la afinidad del receptor para las distintas subclases de IgG. La variante His 131 es el único FcR de los leucocitos capaz de interactuar con IgG2 y quizá por ello los polimorfismos de FcγRIIA parecen factores de riesgo para ciertas enfermedades infecciosas y autoinmunes. Los miembros de la familia FcγRII presentan motivos de señalización en sus colas citoplasmáticas que sufren fosforilación por tirosinacinasas, ya sea un ITAM (*immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif*; motivo de activación de inmunorreceptor basado en tirosina; ●) en el caso de FcγRIIA y FcγRIIC, o un ITIM inhibidor (motivo inhibidor de inmunorreceptor basado en tirosina; ●) en las colas citoplasmáticas de las moléculas FcγRIIB. Los demás receptores Fcγ carecen de motivos de señalización propios, en el caso de FcγRI y FcγRIIIA, por ello se asocian con los homodímeros de señalización γ portadores de los ITAM necesarios. Los FcγRIIA en las células NK se pueden asociar en forma alternativa con la molécula de señalización de la cadena ζ, que contiene el ITAM también utilizada por el receptor de células T (TCR). Los ITAM homólogos se encuentran en las regiones citoplasmáticas de los heterodímeros α/β de Ig (véase fig. 4-3), las moléculas CD3 γ, δ, ε, y en la cadena β de una de las versiones del receptor de IgE de alta afinidad. Se desconoce la forma en que FcγRIIIB transmite las señales hacia el interior de la célula, pero esta molécula de GPI anclada se puede asociar con las denominadas "balsas" de membrana celular que contienen moléculas señal. Los polimorfismos heredados genéticamente de los FcγRIIIA y FcγRIIIB pueden asociarse con la enfermedad autoinmune lupus eritematoso sistémico (LES) (véase pág. 487).

efectoras, en realidad se debería dedicar cierto tiempo a analizar los receptores de membrana para Fcγ que median estos fenómenos (fig. 3-14). No obstante, primero hay que recordar el concepto presentado en la figura 2-5 (pág. 26). La simple ocupación del receptor por su ligando IgG *no* activa la célula; la activación celular sólo comienza cuando se forman enlaces cruzados entre los receptores y los complejos inmunes que contienen más de una molécula de IgG.

Puede existir receptores Fc específicos para todas las clases de anticuerpo, aunque no están bien caracterizados los receptores de IgD e IgM. Se conoce una familia bastante extensa de receptores Fc para IgG, cuyos nueve genes conocidos codifican cuatro grupos principales de receptores FcγRI, FcγRII, FcγRIII y FcγRn (o, más simplemente, FcRn). Dentro de estos grupos hay numerosas variantes de ensamblaje y formas polimorfas heredadas. Todos los receptores Fcγ presentan dominios similares a los de las inmunoglobulinas (pág. 49) en la superficie extracelular, y los receptores Fcγ de los leucocitos (FcγRI, FcγRII, FcγRIII) los utilizan para unirse a las regiones Fc de las Ig, al igual que otras moléculas con estructura relacionada (la superfamilia de inmunoglobulinas, pág. 276) son mutuamente atraídas mediante interacciones entre dominios.

El **FcγRI (CD64)** es un componente constitutivo de los monocitos, los macrófagos y las células dendríticas, y es inducido sobre los neutrófilos tras su activación por IFNγ y G-CSF (factor estimulador de colonias de granulocitos). Por su parte, FcγRI puede inhibirse en respuesta a IL-4 e IL-13. En lo que respecta a su estructura, presenta una cadena α fijadora de IgG que carece de dominios señal citoplasmáticos, y una cadena γ homodimérica que contiene motivos de activación de inmunorreceptor basados en tirosina (ITAM) utilizados para transmitir una señal de activación hacia el interior de la célula. Fija con avidez la IgG monomérica a la superficie de la célula y así la sensibiliza para el posterior encuentro con el antígeno. Se piensa que sus funciones principales se relacionan con los procesos tendientes a facilitar la fagocitosis, la presentación del antígeno y a mediar la destrucción extracelular de las células blanco recubiertas por anticuerpo IgG, proceso denominado citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo (CCDA, pág. 379): También podría intervenir en la regulación general de los niveles de IgG en el organismo, dado que el *índice catabólico* parece depender directamente de la concentración total de IgG, por lo que cabría preguntarse si la endocitosis de IgG unido a FcγRI, el único receptor Fc de leucocitos con afinidad elevada por IgG monomérica, podría contribuir en forma significativa con esta degradación. Por otra parte, en general la *síntesis* es gobernada por la estimulación antigénica, y en animales libres de microorganismos, por ejemplo, los niveles de IgG son muy bajos pero se elevan con rapidez cuando se los transfiere a un ambiente normal.

A diferencia de la única isoforma de FcγRI, hay seis isoformas expresadas de **FcγRII (CD32)**, que en conjunto se encuentran en la superficie de la mayoría de los tipos de leucocitos (fig. 3-14). La fijación de la IgG monomérica a estos receptores es insignificante, lo que se presta a un juego franco de notable simplicidad para la captación de complejos inmunes: debido al incremento geométrico de fuerza de unión entre los ligandos poliméricos versus los monoméricos (véase el efecto de bonificación de la multivalencia, pág. 98), los complejos se fijan muy bien a estos receptores y se adsorben en forma selectiva a la superficie celular, ante la competencia de las muy elevadas concentraciones de IgG monomérica en los líquidos tisulares. Además, debido a la relación espacial establecida dentro del complejo inmune, las moléculas de IgG fijadas generan los enlaces cruzados con los receptores Fc necesarios para inducir la señal celular. Así, la fijación de los complejos de IgG estimula las células fagocíticas y puede provocar trombosis mediante su reacción con las plaquetas. El FcγRIIA media la fagocitosis y la CCDA, mientras que el FcγRIIB2 (y el FcγRIII) media con eficacia la endocitosis que induce la presentación del antígeno. El FcγRIIB1 en las células B no capta los complejos inmunes por endocitosis, por lo que en general las células B sólo presentan el antígeno cognado tras la unión y la endocitosis del receptor de células B (BCR). De hecho, las moléculas de FcγRIIB poseen dominios citoplasmáticos que contienen motivos inhibidores de inmunorreceptores basados en tirosina (ITIM), y al ser ocupados inducen la regulación en menos de la respuesta celular. En el caso de las células B, este proceso media el efecto de retroalimentación negativa de IgG sobre la producción de anticuerpos (véase pág. 226). Así, mientras las isoformas sobre las células fagocíticas se asocian con la incorporación del ligando, la de la célula B no lo incorpora, y en cambio se concentra en la regulación linfocitaria.

Los dos genes ***FcγRIII* (CD16)** codifican las isoformas FcγRIIIA y FcγRIIIB, con afinidad media y baja para IgG, respectivamente. El FcγRIIIA se encuentra en la mayoría de los tipos de leucocitos, mientras que el FcγRIIIB se restringe sobre todo a los neutrófilos y es singular entre los receptores Fc por estar adherido a la membrana celular por medio de un ancla de glucosilfosfatidilinositol (GPI) en lugar de un segmento transmembrana. Se sabe que FcγRIIIA se asocia con la cadena γ dimérica de señalización sobre monocitos y macrófagos, y con las moléculas de señalización de la cadena ζ o γ, o ambas, en las células NK, y que su expresión es estimulada por el factor de crecimiento transformador β (TGFβ) e inhibido por IL-4. Respecto de sus funciones, el FcγRIIIA es en su mayor parte responsable de mediar la CCDA por células NK y de la eliminación de complejos inmunes de la circulación, a cargo de los macrófagos. Por ejemplo, la eliminación de eritrocitos recubiertos por IgG de la sangre de chimpancés era en esencia inhibida por el fragmento monovalente Fab de un anti FcγIII monoclonal (intente comprender por qué se utilizó el fragmento Fab). Los entrecruzamientos de FcγRIIIB estimulan la producción de superóxido por los neutrófilos.

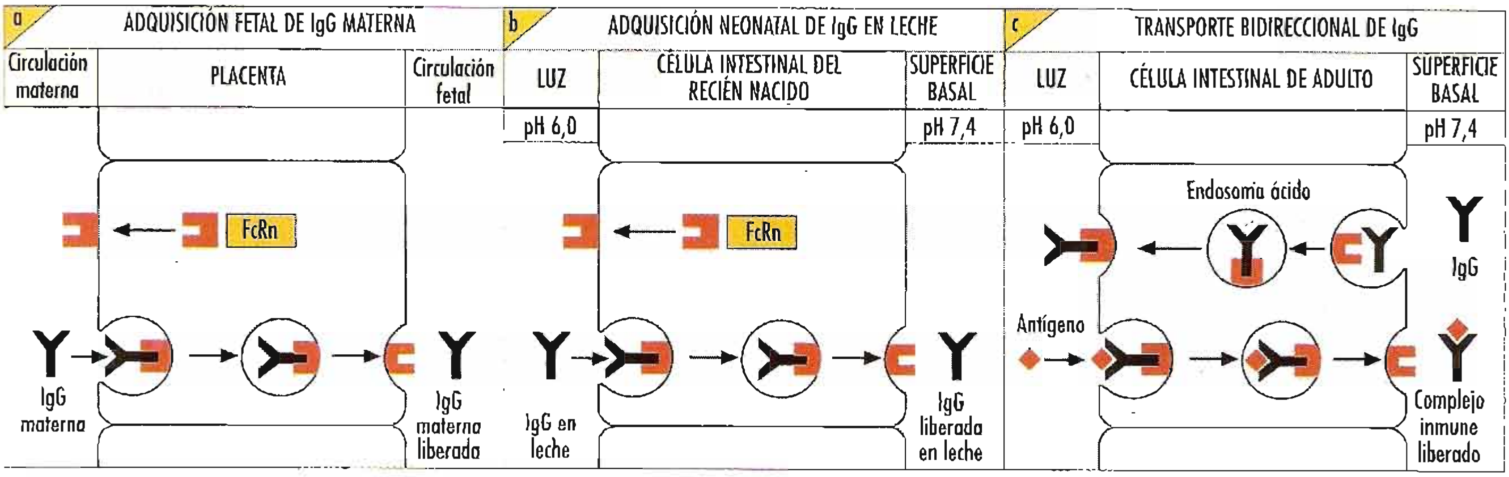


Fig. 3-15. Receptor de superficie de la célula epitelial para las regiones Fc de IgG. a) El receptor FcRn se encuentra en la placenta, donde cumple la importante tarea de transferir IgG de la madre a la circulación fetal, y así proporciona protección importante antes de que se genere la inmunocompetencia en el feto. Además, es evidente que cualquier agente infeccioso que pudiera llegar hasta el feto *in utero* tendría que haber pasado primero por la madre, y el feto dependerá de que el sistema inmune de la madre elabore IgG con las especificidades de unión adecuadas. Esta IgG materna también provee protección al recién nacido, dado que el catabolismo total de la IgG transferida tarda unas semanas, después del parto. **b)** Se demostró con claridad en roedores, aunque permanece en duda en seres humanos, que hay transporte epitelial de IgG desde la leche materna hasta el recién nacido, a través de las células del intestino. La IgG se une a FcRn con pH 6,0, se incorpora en la célula dentro de una vesícula con cubierta de clatrina y se libera al pH de la superficie basal. El movimiento direccional de IgG se logra mediante el efecto de pH asimétrico sobre la interacción del receptor de Ig. FcRn presenta homología con las moléculas CMH clase I y contiene β_2 microglobulina (véase pág. 78). Los ratones por noqueo recién nacidos carentes de FcRn son incapaces de adquirir Ig materna. Además, la IgG tiene una vida media mucho más corta, lo que sugiere que el FcRn también tendría función de receptor protector, que impide la degradación de IgG, y luego lo recicla a la circulación. La vida media de la IgG presenta una extensión inusitada, comparada con las de la IgM y la IgA, lo que permite mantener la respuesta al antígeno durante muchos meses, después de la infección. **c)** El FcRn podría tener una función adicional, aún no probada, como receptor de transbordador bidireccional. Tras la endocitosis se podría producir la fijación de IgG sobre la cara no luminal de la célula epitelial, en el pH más favorable de los endosomas ácidos. Así, este receptor representaría un mecanismo de inmunosupervisión de la mucosa, al atravesar la célula epitelial y entregar IgG en la luz intestinal, y luego devolver los mismos anticuerpos bajo la forma de complejos inmunes, para estimular las células B mediante las células dendríticas foliculares.

El cuarto tipo principal de FcγR no se encuentra en los leucocitos, sino en las células epiteliales. Se denomina **FcRn** debido a su descripción original como receptor **n**eonatal, si bien en el presente se sabe que también aparece en los adultos. Esta molécula posee una estructura similar al *c*omplejo *m*ayor de *h*istocompatibilidad (CMH), y su cadena α se asocia con la β_2 microglobulina. Actúa como receptor de tráfico intracelular y se propusieron por lo menos cuatro actividades importantes para esta molécula. Está bastante bien establecido que transfiere IgG circulante de la madre a través de la placenta hacia el feto (fig. 3-15a) y, por lo menos en roedores, IgG del calostro y de la leche maternos desde el intestino hacia la circulación del recién nacido (fig. 3-15b). La IgG es la única clase de Ig capaz de atravesar la placenta en el ser humano, por lo que proporciona una primera línea de defensa vital no sólo para el feto *in utero* sino también para el recién nacido en las primeras semanas de la vida posnatal. La transferencia de IgG a través de la mucosa del intestino del recién nacido podría reforzar esta protección. El FcRn también podría intervenir en el mantenimiento de niveles estables de IgG circulante y en el transporte bidireccional de IgG a través del epitelio intestinal del adulto, y quizás a través de las superficies mucosas en otros sitios del organismo. La fijación de IgG a FcRn es regulada por el pH, con unión de gran afinidad a pH ácido y muy escasa a pH neutro o alcalino. A diferencia de la transcitosis a través de las células epiteliales mediada por el pIgA-R (véase más adelante), el FcRn no sufre clivaje proteolítico, por lo que puede generar tráfico bidireccional (fig. 3-15c).

Anticuerpos "univalentes" no precipitantes

La IgG posee dos sitios de combinación con el antígeno, pero el 5-15% de las IgG de todos los antisueros parece estar compuesto por moléculas asimétricas no precipitantes con un solo sitio de unión efectivo. El otro sitio presenta bloqueo estequiométrico por un hidrato de carbono con alto contenido de manosa en la región Fab.

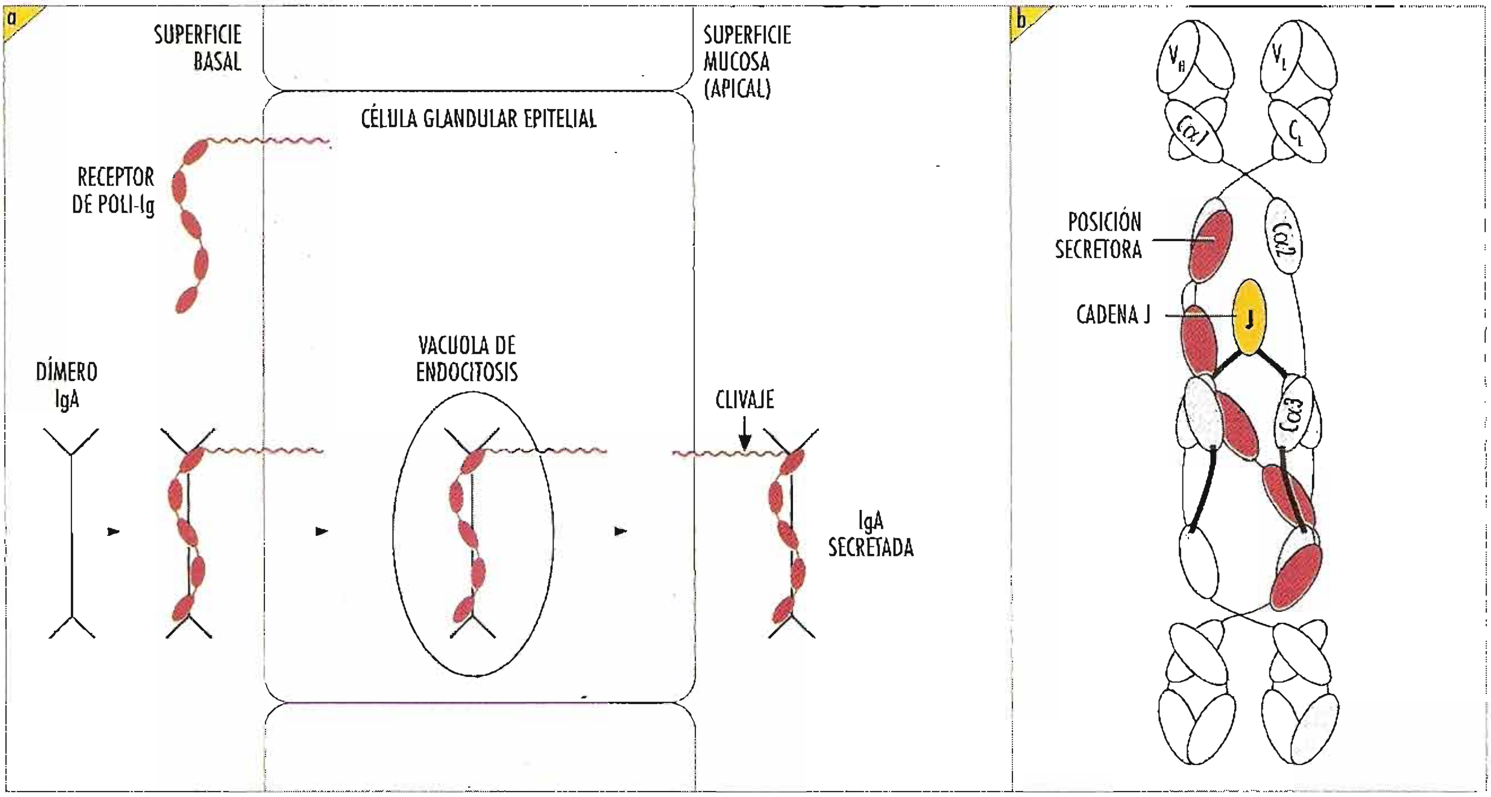


Fig. 3-16. IgA secretora. a) Mecanismo de secreción de IgA en la superficie mucosa. La célula mucosa sintetiza un receptor de la Ig polimérica (pIgR), que se inserta en la membrana basal. La IgA dimérica se fija a este receptor y es transportada mediante una vacuola de endocitosis hacia la superficie apical. El clivaje del receptor libera la IgA secretora, aún unida a la parte del receptor denominada porción secretora. Nótese cómo el clivaje del receptor introduce una asimetría que dirige el transporte de los dímeros de IgA hacia la superficie mucosa (en dirección opuesta a la transcitosis de la IgG de la leche en la fig. 3-15). **b)** Vista esquemática de la estructura de la IgA secretada. La cadena J, que es parte integral de la Ig polimérica secretada (IgA e IgM), forma enlaces disulfuro con el penúltimo residuo del dominio Cα3, una cisteína (Cys 495). La unión covalente de la cadena J parece esencial para la fijación inicial al receptor de Ig polimérica.

La inmunoglobulina A protege las superficies mucosas

La IgA aparece en forma selectiva en secreciones seromucosas como saliva, lágrimas, líquidos nasales, sudor y calostro, y las secreciones del pulmón y las vías genitourinarias y gastrointestinales, donde es obvio que tiene por función defender las superficies corporales externas expuestas contra el ataque de microorganismos. Es notable la aptitud con que se cumple esta función, dado que casi 40 mg de IgA secretora/kg de peso corporal se transportan a diario a través del epitelio de las criptas intestinales humanas hacia la superficie mucosa, comparados con una producción diaria *total* de IgG de 30 mg/kg.

La IgA se sintetiza en forma localizada por acción de las células plasmáticas y se dimeriza en el interior de la célula junto con un polipéptido con alto contenido de cisteína denominado cadena J, de peso molecular 15.000. La molécula dimérica es en efecto tetravalente y posee una avidez de fijación mucho mayor para los antígenos poliméricos que la forma monomérica, debido al efecto de bonificación de la multivalencia (véase pág. 98). Si se produjera la dimerización al azar, *tras* la secreción se formarían dímeros con especificidad mixta, no más efectivos en la combinación con el antígeno que los monómeros. La IgA dimérica se fija con fuerza por medio de la cadena J a un receptor para Ig polimérico (**receptor poli-Ig, pIgR**, que también fija IgM polimérica) que se encuentra en la membrana de las células epiteliales mucosas. Luego el complejo es endocitado de manera activa, transportado a través del citoplasma y secretado a los líquidos corporales externos tras el clivaje de la cadena peptídica pIgR. El fragmento del receptor que permanece unido a la IgA se denomina componente secretor, y la molécula en conjunto, **IgA secretora** (fig. 3-16). Se sugiere al lector pasar a la figura 8-9 (pág. 173) para una demostración notable de IgA secretora retenida en el moco superficial de las células epiteliales de la mucosa intestinal.

Se piensa que la función de la porción secretora es proteger la bisagra de la IgA contra las proteasas bacterianas. También sería interesante considerar que actúa como un Teflon molecular para inducir

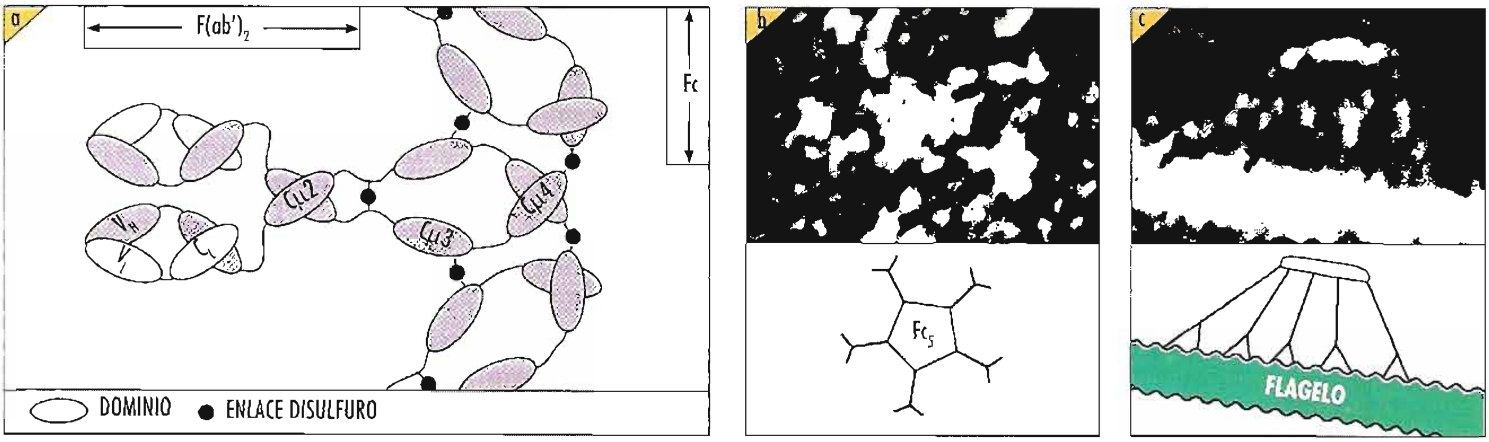


Fig. 3-17. Estructura de IgM. a) La disposición de dominios en una de las cinco subunidades muestra la construcción del pentámero mediante los enlaces disulfuro entre Cys 414 en los dominios Cμ3 y entre Cys 575, el penúltimo residuo C-terminal en la porción de la cola de 19 aminoácidos que sigue a Cμ4 (según Hilschman & Feinstein). Sin complicarse mucho, es de esperar que el lector pueda apreciar que la región bisagra en IgG (véase fig. 3-13) fue reemplazada por un par rígido de dominios adicionales (Cμ2), mientras que los dominios Cμ3 y Cμ4 de IgM son equivalentes en estructura a las regiones Cγ2 y Cγ3, respectivamente, de IgG. b) Estructura al microscopio electrónico de una macroglobulina de Waldeström humana, que en solución libre adopta una configuración "en estrella". c) Estructura revelada en un preparado para microscopio electrónico de anticuerpo IgM específico de oveja fijado al flagelo de *Salmonella paratyphi*, donde la inmunoglobulina adopta una conformación "similar a un cangrejo" al establecer sus uniones con el antígeno. Con los brazos F(ab')$_2$ doblados fuera del plano de la región Fc$_5$ central, los dominios Cμ3 de fijación del complemento son de fácil acceso para el primer componente del complemento (véase pág. 24). La constelación Fc$_5$ obtenida por clivaje con papaína puede activar directamente el complemento. (Las microfotografías electrónicas son preparados con tinción negativa de aumento × 2.000.000, es decir, 1 mm representan 0,5 nm; gentilmente cedidas por los doctores A. Feinstein y E.A. Munn.)

un potencial de no adhesión en el dímero de IgA, dado que los anticuerpos IgA actúan como inhibidores de la adherencia de microorganismos recubiertos a la superficie de las células mucosas, por lo que impiden el ingreso a los tejidos corporales. También se combinan con la miríada de antígenos solubles de origen dietario y microbiano para bloquear el acceso al organismo. La IgA agregada se fija a los polimorfonucleares y también puede activar la vía alternativa del complemento (fig. 2-3), no la clásica, sobre todo mediante la cantidad abundante de grupos de hidratos de carbono. A esto podrían deberse los informes de sinergia entre IgA, complemento y lisozima en la destrucción de ciertos microorganismos coliformes, donde se supone que la alteración de la superficie externa permite el acceso de la enzima en la pared de peptidoglucano.

La IgA plasmática presenta un predominio de la forma monomérica, y dado que activa poco el complemento, es probable que el organismo la use para la neutralización directa de cualquier antígeno que rompa la barrera epitelial para ingresar en la circulación en cantidades apreciables. Sin embargo tiene funciones adicionales mediadas a través del FcαR (CD89) para la IgA presente en monocitos, macrófagos, neutrófilos y subpoblaciones de linfocitos T y B. Por su estructura, este receptor se asemeja más al FcγRIIIA por tener dos dominios de inmunoglobulina y asociarse con una cadena γ homodimérica de señalización. Tras formar enlaces cruzados, el receptor puede activar la endocitosis, la fagocitosis, la liberación de mediadores de la inflamación y la CCDA. La expresión de la FcαR en los monocitos muestra una regulación en más fuerte ante los lipopolisacáridos bacterianos.

La inmunoglobulina M representa una defensa contra la bacteriemia

Las moléculas de IgM son polímeros de cinco subunidades tetrapeptídicas, cada una portadora de un dominio C$_H$ adicional; antes se las denominaba anticuerpos de macroglobulina por su peso molecular elevado. Al igual que en la IgA se incorpora una sola cadena J en el pentámero con la estructura que se muestra en la figura 3-17a. Mediante tinción negativa para microscopio electrónico se observa que la molécula libre en solución adopta una forma en estrella, pero combinada como anticuerpo con una membrana superficial antigénica puede adoptar una configuración con forma de cangrejo (fig. 3-17b y c), en la que numerosas cual múltiples regiones Fc quedan ahora accesibles para C1q, que se fija con mayor fuerza. Una pequeña proporción de IgM circulante se presenta en forma de hexámero, que carece de ca-

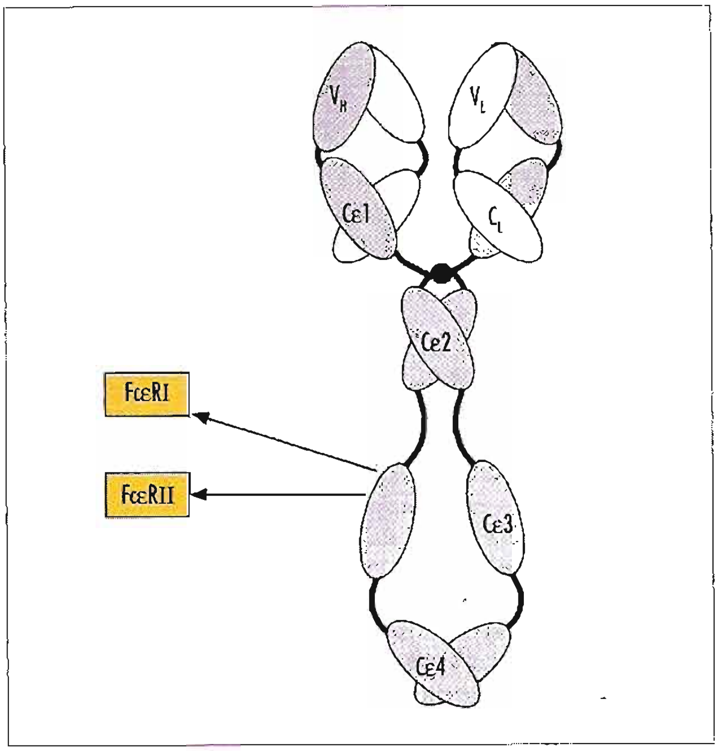


Fig. 3-18. Estructura de dominios de IgE. Nótese la similitud general de la estructura con la unidad básica de IgM, en la figura 3-17, donde la bisagra de la IgG es reemplazada por los dominios apareados adicionales Cε2, y también la falta de asociación de los penúltimos dominios C-terminales (en este caso Cε3), que es una característica constante de todas las clases de Ig. La cadena α del receptor de alta afinidad para IgE en los mastocitos (FcεRI) se fija con gran avidez a un sitio único ubicado en las posiciones 301-304 del dominio Cε3. El FcεRII de baja afinidad en las células inflamatorias y las células B requiere la presencia de ambos dominios Cε3 para lograr una unión significativa con IgE. Los ratones por noqueo carentes de la cadena α de FcεRI no expresan el receptor y no pueden producir reacciones anafilácticas; en conclusión, el receptor de baja afinidad FcεRII expresado no contribuye en grado significativo con la anafilaxia mediada por IgE/mastocitos.

dena J pero es hasta 20 veces más efectivo que el pentámero en la activación de lisis mediada por complemento. La IgM monomérica circulante (es decir, una única unidad tetrapeptídica) aparece en las infecciones crónicas, pero es incapaz de activar el complemento. La valencia teórica de combinación del pentámero es de hecho 10, pero sólo se observa en la interacción con haptenos pequeños; con antígenos de mayor tamaño la valencia efectiva desciende a 5, lo que puede atribuirse a alguna forma de restricción estérica debida a la falta de flexibilidad de la molécula. Los anticuerpos IgM tienden a presentar baja afinidad relativa, medida ante determinantes aislados (haptenos), pero debido a la valencia elevada se fijan con avidez bastante notable a antígenos con numerosos epítopos (efecto de bonificación de la multivalencia, pág. 98). Por la misma razón, estos anticuerpos son agentes aglutinantes y citolíticos muy eficientes, y dado que aparecen al comienzo de la respuesta contra las infecciones y están en su mayor parte restringidos al torrente sanguíneo, es muy probable que desempeñen un papel de particular importancia en casos de bacteriemia. Las isohemaglutininas (anti-A, anti-B) y muchos de los anticuerpos "naturales" contra microorganismos suelen ser IgM; los anticuerpos contra el antígeno tifoideo "O" (endotoxina) y los anticuerpos "WR" de sífilis también pertenecen a esta clase. IgM parece preceder a la IgG en la filogenia de la respuesta inmune en vertebrados.

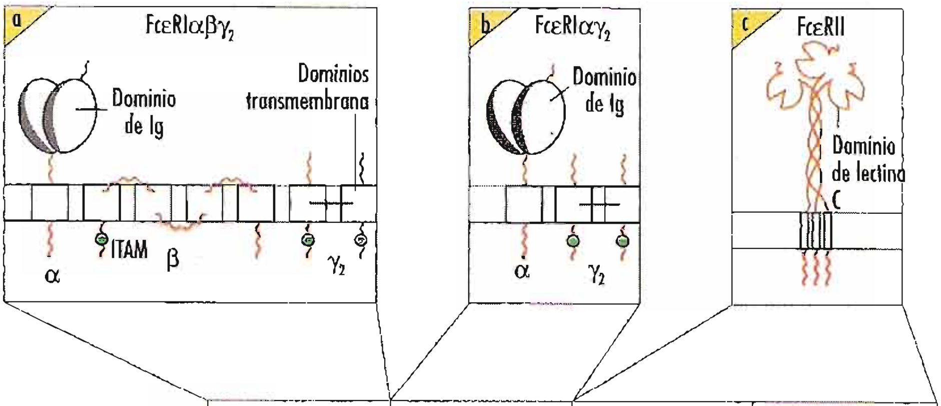
La IgM monomérica, con una secuencia hidrófoba unida en el extremo C-terminal de la cadena pesada que ancla la molécula a la membrana celular, es el principal receptor de anticuerpos utilizado por los linfocitos B para reconocer el antígeno (véase fig. 2-10).

La inmunoglobulina D es un receptor de superficie celular

Esta clase se encontró al descubrir una proteína de mieloma que no tenía especificidad antigénica de IgG, IgA o IgM, pero reaccionaba con anticuerpos contra cadenas livianas de inmunoglobulina y tenía la estructura tetrapeptídica básica. La región bisagra está notablemente extendida y si bien hasta cierto punto está protegida por hidratos de carbono, esta característica podría ser la que hace a la IgD exclusivamente susceptible a la degradación proteolítica entre todas las distintas clases de inmunoglobulinas, y ser responsable de su corta vida media en plasma (2,8 días). Casi la totalidad de la IgG, junto con la IgM, se encuentran en una proporción de linfocitos B, donde podrían operar como receptores de antígenos de interacción mutua para el control de la activación y la supresión de linfocitos.

La inmunoglobulina E desencadena reacciones inflamatorias

En el suero sólo hay muy bajas concentraciones de IgE, y muy pocas células plasmáticas del organismo sintetizan esta inmunoglobulina. Por lo tanto, no sorprende que hasta el presente sólo se haya encontrado un puñado de mielomas por IgE, en comparación con las decenas de miles de paraproteinemias por IgG. Los anticuerpos IgE (fig. 3-18) permanecen fijados con firmeza durante un período prolongado cuando se inyectan en piel de ser humano, unidos al receptor de alta afinidad FcεRI sobre los mastocitos (fig. 3-19). El contacto con el antígeno lleva a la desgranulación de los mastocitos con liberación de aminas vasoactivas preformadas y citocinas, y la síntesis de diversos mediadores inflamatorios derivados



	FcεRIαβγ$_2$	FcεRIαγ$_2$	FcεRIIA (CD23)	FcεRIIB (CD23)
Afinidad (M^{-1})	muy al 10^{10}	muy al 10^{10}	ba < 10^7	ba < 10^7
Fija IgG monomérico	-	-	-	-
Fija IgG agregadp	-	-	-	-
Fija IgE monomérico	++	++	+	+
Aparece sobre:				
Monocitos	-	+	-	+
Macrófagos	-	+	-	+
Células dendríticas	-	+	-	+
Neutrófilos	-	-	-	+
Eosinófilos	-	+	+	+
Células NK	-	-	-	?
Células T	-	-	-	+
Células B	-	-	+	+
Mastocitos	++	++	-	?

Fig. 3-19. **Estructuras y características de los receptores de superficie para las regiones Fc de IgG.** Las barras representan puentes disulfuro. El receptor de alta afinidad para IgE, FcεRI, sólo aparece en basófilos y mastocitos (y algunos linfocitos no T, no B) de ratón. Sin embargo, los seres humanos también expresan una versión de FcεRI que carece de una cadena β de cuatro regiones transmembrana, que se expresa en varios tipos celulares diferentes, aunque en menores concentraciones que en los mastocitos. La figura 16-1 muestra datos más recientes sobre la estructura de FcβRI. El sitio de unión con gran afinidad para IgE sobre estos receptores contiene una placa hidrófoba de cuatro triptófanos en la parte superior de la molécula. El receptor de baja afinidad para IgE, FcεRII (CD23) difiere de la mayoría de los demás tipos de receptores Fc, pues utiliza dominios de lectina tipo C en lugar de dominios de tipo Ig. Se encuentra en la superficie celular como trímero, pero se desconocen los detalles de la forma en que transduce las señales hacia el interior de la célula. Hay dos versiones de FcεRII que difieren en siete aminoácidos de las colas citoplasmáticas. Mientras que en esencia el FcεRIIA sólo se encuentra en células B y eosinófilos, FcεRIIB muestra una distribución mucho más amplia.

del ácido araquidónico (véase fig. 1-15). Este proceso es responsable de los síntomas de fiebre de heno y de asma extrínseco, cuando los pacientes con alergia atópica entran en contacto con el alérgeno, por ejemplo, polen de hierbas.

La función *fisiológica* principal de la IgE parece ser la protección de sitios anatómicos susceptibles de sufrir traumatismos y contra el ingreso de patógenos mediante el reclutamiento local de factores plasmáticos y células efectoras al **desencadenar una reacción inflamatoria aguda**. Los agentes infecciosos que atraviesan las defensas de la IgA parecen combinarse con IgE específica sobre la superficie de los mastocitos y desencadenar la liberación de agentes vasoactivos y factores quimiotácticos de los granulocitos, para inducir la llegada de IgG plasmática, complemento, neutrófilos y eosinófilos (véase pág. 307). En este contexto, la capacidad de los eosinófilos para lesionar los helmintos recubiertos por IgG y la respuesta generosa de la IgE ante estos parásitos constituiría una defensa efectiva.

El receptor FcεRII de baja afinidad, CD23, se encuentra sobre muchos tipos diferentes de células hematopoyéticas (fig. 3-19c). Su función principal parece ser la regulación de la síntesis de IgE por las células B, con un papel estimulador con bajas concentraciones de IgE y un papel inhibidor con concentraciones elevadas. También puede facilitar la fagocitosis de antígenos opsonizados con IgE.

Cuadro 3-4. *Comparación de subclases de IgG humanas.* La muy escasa capacidad de fijación del complemento de la IgG4 no se puede adscribir a la rígida región bisagra, dado que la sustitución de serina 331 por prolina (como en la IgG1 y la IgG3) brinda a la molécula una excelente capacidad de fijación con C1q y de lisis mediada por complemento. Es interesante destacar que la sustitución de prolina 331 por serina en la IgG1 mantiene la capacidad de fijación a C1q, pero disminuye en gran medida la actividad lítica, una incógnita que falta resolver*

	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4
Concentración sérica	9	3	1	0,5
% de IgG total en suero normal	67	22	7	4
Vida media en suero (días)	23	23	8	23
Activación del complemento (vía clásica)*	++	+	+++	±
Fijación a los receptores Fc de monocitos/macrófagos	+++	±	+++	+
Capacidad para atravesar la placenta	+++	±	+++	+++
Agregación espontánea	–	–	+++	
Fijación a proteína A estafilocócica	+++	+++	±	+++
Fijación a proteína G estafilocócica	+++	+++	+++	+++
Alotipos Gm	a, z, f, x	n	b0, b1, b3, g, s, t, etc.	4a, 4b

Las inmunoglobulinas se dividen en subclases

El análisis antigénico de los mielomas por IgG reveló variaciones ulteriores y mostró que se podían agrupar en cuatro **subclases** isotípicas denominadas IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4. Todas las diferencias radican en las cadenas pesadas, que se rotularon como $\gamma1$, $\gamma2$, $\gamma3$ y $\gamma4$, respectivamente. Estas cadenas pesadas muestran considerable homología y tienen ciertas estructuras en común entre sí (que reaccionan con antisueros antiIgG específicos), pero cada una tiene una o más estructuras adicionales características de su propia subclase, originadas a partir de diferencias en la composición de aminoácidos primarios y en los puentes disulfuro intercatenarios. Esto da origen a diferencias en el comportamiento biológico que se resumen en el cuadro 3-4.

También se hallaron dos subclases de IgA, de las que IgA1 constituye el 80-90% del total. La subclase IgA2 se encuentra en dos formas alotípicas, una de las cuales [IgA2m(1)] es singular por carecer de enlaces disulfuro intercatenarios entre las cadenas pesadas y livianas. La variación de clase y subclase no está restringida a las inmunoglobulinas humanas; es una característica de todos los mamíferos estudiados hasta el presente: monos, ovejas, conejos, cobayos, ratas y ratones.

RESUMEN

La estructura básica es una unidad tetrapeptídica

- Las inmunoglobulinas (Ig) poseen una estructura básica tetrapeptídica con dos cadenas pesadas idénticas y dos cadenas livianas idénticas, unidas mediante enlaces disulfuro intercatenarios.
- La papaína escinde la molécula en la región bisagra flexible expuesta, para dar dos fragmentos fijadores de antígeno univalentes idénticos (Fab) y otro fragmento (Fc). La proteólisis con pepsina genera un fragmento fijador de antígeno divalente $F(ab')_2$ que carece de Fc.

Las secuencias de aminoácidos revelan variaciones en la estructura de las inmunoglobulinas

- Quizás haya 10^8 o más moléculas diferentes de Ig en el suero normal.
- El análisis de proteínas de mieloma, que son Ig homogéneas elaboradas por clones aislados de células plasmáticas malignas, mostró que la región N-terminal de las cadenas pesadas y livianas posee una estructura de aminoácidos variable, y que el resto tiene estructura relativamente constante.

Genes de inmunoglobulina

- Cúmulos de genes en tres cromosomas diferentes codifican cadenas de Ig κ, λ y pesadas, respectivamente. En seres humanos, en cada cúmulo hay unos 30-50 genes funcionales de región variable (*V*) y unos cuatro a seis minisegmentos *J* pequeños. Además, los cúmulos de cadenas pesadas contienen unos 25 minigenes *D*. Hay un solo gen codificador de cada una de las nueve regiones constantes de las diferentes clases y subclases.
- Un mecanismo especial de ensamblaje, en el que interviene el reconocimiento mutuo de secuencias flanqueadoras 3′ y 5′ catalizado por enzimas recombinasas, efectúa las translocaciones *DJ*, *VD* y *VJ*.

Variaciones estructurales de la molécula básica de Ig

- Los isotipos son variantes de Ig basados en distintas estructuras constantes de cadena pesada, todas presentes en cada individuo; son ejemplos las clases de inmunoglobulinas IgG, IgA, etc.
- Los alotipos son variantes de cadena pesada codificados por genes alélicos (alternativos) en sitios exclusivos, por lo que tienen distribución genética; son ejemplos los grupos Gm.
- Un idiotipo es el conjunto de determinantes antigénicos en un anticuerpo, por lo general asociados con las regiones hipervariables, reconocidos por otros receptores específicos de antígeno, ya sean receptores de anticuerpo (el antiidiotipo) o de célula T.
- Los dominios de región variable fijan el antígeno, y tres asas hipervariables (denominadas regiones determinantes de complementariedad) en la cadena pesada y tres en la cadena liviana forman el sitio de fijación del antígeno.
- Los dominios de la región constante de la cadena pesada (en particular el Fc) llevan a cabo una función biológica secundaria tras la fijación del antígeno, por ejemplo la fijación del complemento y la unión del macrófago.

Clases y subclases de inmunoglobulina

- En seres humanos hay tres tipos principales de cadena pesada que dan origen a cinco clases de Ig. La IgG es la más abundante de los líquidos extravasculares, donde neutraliza las toxinas y combate los microorganismos al fijar el complemento por la vía del C1 y facilitar la unión a las células fagocíticas mediante receptores para C3b y Fcγ. Atraviesa la placenta en las etapas tardías del embarazo y el intestino en el recién nacido.
- Diversos receptores Fcγ se especializaron para distintas funciones, como fagocitosis, citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo, transporte placentario y regulación de linfocitos B.
- IgA se halla sobre todo como monómero (unidad básica tetrapeptídica) en plasma, pero en las secreciones seromucosas, donde es la Ig principal encargada de la defensa de las superficies corporales externas, aparece como dímero unido a un componente secretor.
- Por lo general, la IgM es una molécula pentamérica, aunque una fracción menor es hexamérica. En esencia es intravascular y se produce al comienzo de la respuesta inmune. Debido a su valencia elevada es un aglutinador bacteriano muy eficaz y un mediador de la citólisis dependiente de complemento, por lo que es una defensa poderosa de primera línea contra la bacteriemia.

- La IgD se encuentra sobre todo en el linfocito y actúa junto con la IgM como receptor del antígeno sobre células B no estimuladas.
- La IgE se une con firmeza a los mastocitos y el contacto con el antígeno induce el reclutamiento local de agentes antimicrobianos por medio de la desgranulación de los mastocitos y la liberación de mediadores inflamatorios. La IgE es importante contra ciertas infestaciones parasitarias y es responsable de los síntomas de alergia atópica.
- Es posible mayor diversidad mediante la subdivisión de las clases en subclases, sobre la base de diferencias estructurales en las cadenas pesadas, todas presentes en cada individuo normal.

Véanse preguntas de opciones múltiples en el sitio web correspondiente (www.roitt.com).

LECTURAS SUGERIDAS

Amigorena S. & Bonnerot C. (1999) Fc receptor signaling and trafficking: a connection for antigen processing. *Immunological Reviews* **172**,279.

Brown D.A. & London E. (1998) Functions of lipid rafts in biological membranes. *Annual Review of Cellular and Developmental Biology* **14**,111.

Cedar H. & Bergman Y. (1999) Developmental regulation of immune system gene rearrangement. *Current Opinion in Immunology* **11**, 64.

Daeron M. (1997) Fc receptor biology. *Annual Review of Immunology* **15**, 203.

Delves P.J. & Roitt I.M. (eds) (1998) *Encyclopedia of Immunology*, 2nd edn. Academic Press, London. (Artículos sobre IgG, IgA, IgM, IgD e IgE y función y dominios de las inmunoglobulinas.)

Dickinson B.L. *et al.* (1999) Bidirectional FcRn-dependent IgG transport in a polarized human intestinal epithelial cell line. *Journal of Clinical Investigation* **104**,903.

Grawunder U. & Harfst E. (2001) How to make ends mee in V(D)J recombination. *Current Opinion in Immunolog* **13**,186.

Grawunder U., West R.B. & Lieber M.R (1998) Antige receptor gene rearrangement. *Current Opinion i Immunology* **10**,172.

Kinet J-P. (1999) The high-affinity IgE receptor (FcεRI) from physiology to pathology. *Annual Review o Immunology* **17**,931.

Ravetch J.V. & Bolland S. (2001) IgG Fc receptors. *Annua Review of Immunology* **19**, 275.

Reddy P.S. & Corley R.B. (1999) The contribution of E quality control to the biologic functions of secretor IgM. *Immunology Today* **20**,582.

CAPÍTULO 4

Receptores de membrana para el antígeno

www.el12cirujano.blogspot.com/

Introducción, 65
Receptores de superficie de la célula B (BCR) para el antígeno, 65
  La célula B inserta una inmunoglobulina transmembrana en su superficie, 65
  La inmunoglobulina de superficie forma complejos con proteínas asociadas de la membrana, 66
Receptores de superficie de la célula T (TCR) para el antígeno, 67
  El receptor para el antígeno es un heterodímero de transmembrana, 67
  Existen dos clases de receptores de células T, 67
  La codificación de los receptores de células T es similar a la de las inmunoglobulinas, 69
  El complejo CD3 es una parte integral del receptor de la célula T, 70
Generación de diversidad para el reconocimiento del antígeno, 71
  Amplificación intracatenaria de la diversidad, 71
  Amplificación intercatenaria, 75
  Hipermutación somática, 75
Receptores NK, 77
Complejo mayor de histocompatibilidad (CMH), 78
  Las moléculas clase I y clase II son heterodímeros unidos a la membrana, 78
  Diversos genes relacionados con la respuesta inmune contribuyen a la región clase III restante del CMH, 78
  Mapa genético del CMH, 81
  Los genes del CMH despliegan un notable polimorfismo, 81
  Nomenclatura, 83
  Herencia del CMH, 83
  Distribución tisular de las moléculas del CMH, 85
  Función del CMH, 85
  Moléculas no clásicas y moléculas relacionadas con la cadena clase I del CMH, 86
Resumen, 86
Lecturas adicionales, 88

INTRODUCCIÓN

La interacción de los linfocitos con el antígeno tiene lugar a través de la unión de receptores especializados de la superficie celular, específicos para el antígeno, que funcionan como unidades de reconocimiento. Dado que las células B y T utilizan receptores bastante distintos para unirse al antígeno, deben tratarse por separado.

RECEPTORES DE SUPERFICIE DE LA CÉLULA B (BCR) PARA EL ANTÍGENO

La célula B inserta una inmunoglobulina transmembrana en su superficie

En el capítulo 2 nos referimos al sistema sagaz por el que un antígeno puede ser conducido de manera inexorable a su destrucción –mediante la selección de linfocitos capaces de fabricar anticuerpos de morfología complementaria a la del antígeno– a través de su capacidad de combinarse con una copia de la molécula de anticuerpo situada en la superficie del linfocito. Debe destacarse que la combinación con el receptor de superficie puede activar la proliferación de esta célula, antes de madurar como un clon de células plasmáticas secretoras de anticuerpos específicos para el antígeno que le dio origen (véase fig. 2-11).

La tinción inmunofluorescente de las células B vivas con antiinmunoglobulina (anti-Ig) marcada (p. ej., fig. 2-6c) revela que la Ig de membrana de aparición más temprana es de la clase IgM. La célula está programada para la producción de una única especificidad de anticuerpo y de ese modo transcribe sus genes reordenados individuales *VJCκ* (o λ) y *VJCμ*. La solución al problema de segregar el anticuerpo con la misma especificidad que la presente en la superficie celular como Ig de membrana se encuentra en un mecanismo de **empalme diferencial**. La cadena inicial nuclear μ del RNA de transcripción incluye secuencias que codifican **regiones de transmembrana hidrófobas**, que le permiten a la IgM asentarse en la membrana donde actúa como receptor de la célula B (BCR); pero si esas regiones se eliminan por empalmes, las moléculas de anticuerpos pueden secretarse en la forma soluble (fig. 4-1).

Cuando la célula B madura, coexpresa un BCR que utiliza una IgD de superficie de la misma especificidad. Este fenotipo de la célula B, IgM de superficie + IgD de superficie, es abundante en los linfocitos de la zona del manto de los folículos linfoideos secundarios (véase fig. 8-7f) y se logra por empalme diferencial de una única transcripción que contiene

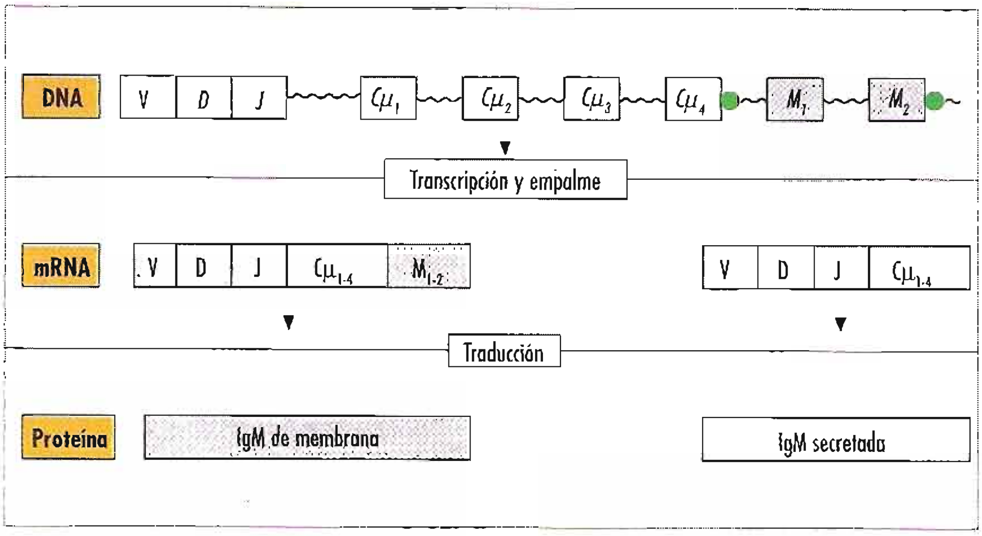

DNA
V
D
J
Cμ1
Cμ2
Cμ3
Cμ4
M1
M2
Transcripción y empalme
mRNA
V
D
J
Cμ1-4
M1-2
V
D
J
Cμ1-4
Traducción
Proteína
IgM de membrana
IgM secretada

Fig. 4-1. Mecanismo de empalme para el cambio de la forma de IgM de membrana a la forma secretada. El procesamiento alternativo determina si se produce una forma secretada o una forma unida a la membrana de la cadena pesada μ. Si se produce la terminación de la transcripción o el clivaje en el intrón entre *C*μ*4* y M_1 se utiliza la señal de adición *C*μ*4* poli-A (AAUAAA) y se produce la forma secretada. Si la transcripción continúa a través de los exones de membrana, entonces *C*μ*4* puede empalmarse a las secuencias *M*, lo que genera la utilización de la señal de adición M_2 poli-A. La secuencia hidrófoba codificada por los exones M_1 y M_2 luego se fija al receptor IgM en la membrana. Para simplificar, se omitió la secuencia líder o guía; 〰 = intrones.

segmentos VDJ, Cμ y Cδ que produce ya sea IgM o IgD de membrana (fig. 4-2). Con la posterior maduración de la célula B, en el BCR pueden expresarse otros isotipos como IgG, (véase pág. 268).

La inmunoglobulina de superficie forma complejos con las proteínas asociadas de la membrana

El extremo citoplasmático de la IgM de superficie tiene una longitud de apenas tres aminoácidos. De ninguna manera este extremo podría acomodar los motivos estructurales requeridos para la interacción con la proteína tirosina cinasa intracelular, que media la activación de las cascadas de transducción de señales. Con cierta dificultad, debiera decirse, se aisló por fin un heterodímero unido por un puente disulfuro que copurifica con la Ig de membrana. Son dos cadenas de glucoproteínas denominadas Ig-α (CD79a) e Ig-β (CD79b) (fig. 4-3). Tanto la Ig-α como la Ig-β poseen un dominio tipo inmunoglobulina extracelular, pero son sus dominios citoplasmáticos C-terminal indispensables pa-

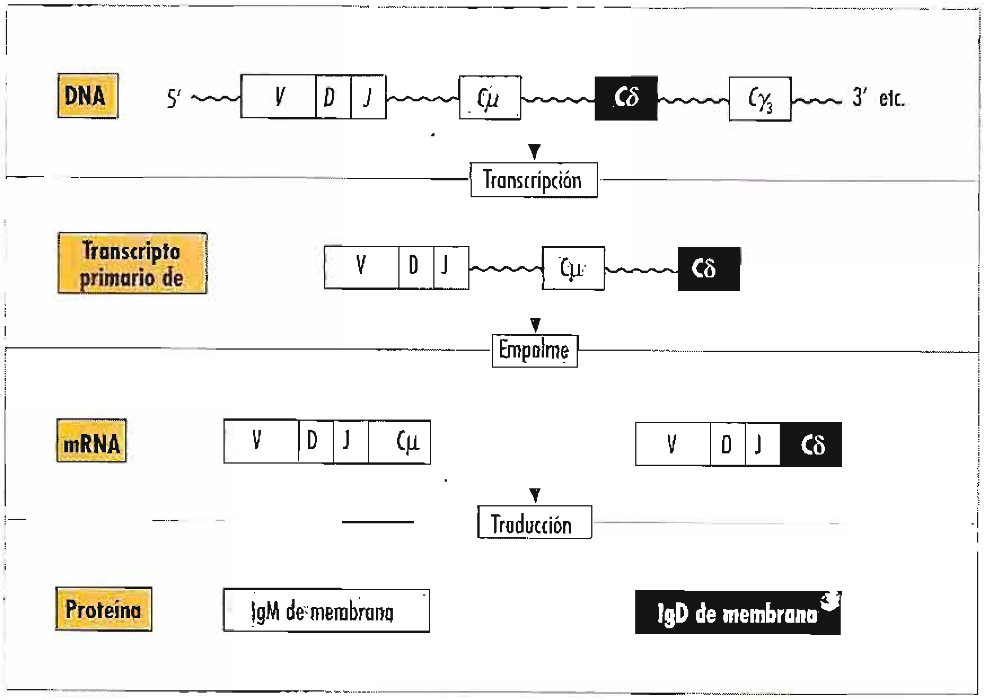

DNA
5'
V
D
J
Cμ
Cδ
Cγ3
3' etc.
Transcripción
Transcripto primario de
V
D
J
Cμ
Cδ
Empalme
mRNA
V
D
J
Cμ
V
D
J
Cδ
Traducción
Proteína
IgM de membrana
IgD de membrana

Fig. 4-2. La IgM de superficie de membrana y los receptores IgD de idéntica especificidad aparecen en la misma célula a través del empalme diferencial del compuesto transcripto primario de RNA (de nuevo y con fines de simplificación, se omitieron las secuencias guía).

ra la señalización los que sufren una fosforilación en la activación celular por un enlace cruzado inducido por el antígeno del BCR, un acontecimiento asociado también con la rápida movilización del Ca^{2+}. Los motivos estructurales que contienen tirosina (ITAM, *i*mmunoreceptor *t*yrosine-based *a*ctivation *m*otifs) están presentes en los dominios citoplasmáticos del heterodímero Ig-α/β (fig. 4-3) y son los que sufren un proceso de fosforilación por las tirosina cinasas.

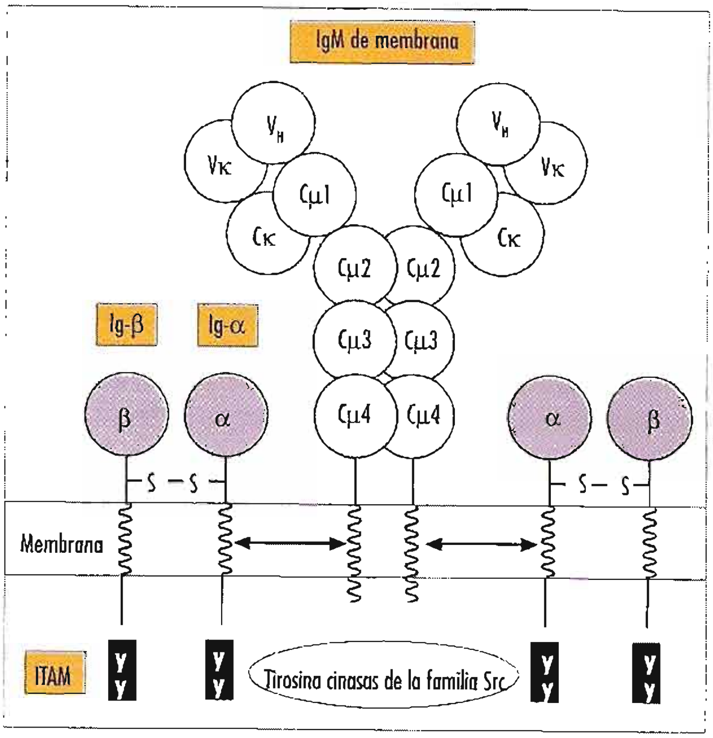


Fig. 4-3. Modelo del complejo receptor de células B (BCR). El heterodímero Ig-α/Ig-β está codificado por genes específicos de las células B *mb-1* y *B29*, respectivamente. Se observan dos de estos heterodímeros en los que la Ig-α se asocia con la región de la cadena μ de la IgM en el sitio que atraviesa la membrana. Los dominios extracelulares tipo Ig están coloreados de azul. Cada recuadro que contiene tirosina (y) posee una secuencia de estructura general $Tyr.X_2.Leu.X_7.Tyr.X_2.Ile$ (donde X no es un residuo conservado), denominado motivo de activación de inmunorreceptores basado en tirosina (ITAM). Con la activación de la célula B estas secuencias de ITAM actúan como transductores de señal mediante su capacidad para asociarse con una serie de tirosina cinasas y ser fosforilados por estas enzimas. Nótese que aun cuando se ilustra una cadena liviana κ en la IgM de superficie, algunas células B utilizan una cadena liviana λ.

RECEPTORES DE SUPERFICIE DE LA CÉLULA T (TCR) PARA EL ANTÍGENO

El receptor para el antígeno es un heterodímero transmembrana

Cuando por fin se logró rastrear su origen (hito 4-1), el **receptor de la célula T** específico para antígeno se identificó como una molécula ligada a la membrana, compuesta por dos cadenas unidas por puentes disulfuro, α y β. Cada cadena se pliega en dos dominios tipo Ig, uno que posee una estructura relativamente invariable y el otro que exhibe un alto grado de variabilidad, de modo que el TCRαβ posee una estructura que recuerda de modo bastante próximo al fragmento Fab de la Ig. Esta analogía se extiende incluso más; cada una de las dos regiones variables posee tres regiones hipervariables, que por los datos obtenidos por difracción de rayos X se determinó que incorporan los aminoácidos que hacen contacto con el péptido del ligando del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH).

Para la especificidad del antígeno se requieren ambas cadenas, α y β, como se demuestra por transfección de los genes del receptor T provenientes de un clon de células T citotóxicas específico por fluoresceína a otro clon de especificidad diferente; cuando expresó los nuevos genes α y β, el clon transfectado adquirió la capacidad de lisar las células blanco fluoresceinadas. Otro tipo de experimento utilizó hibridomas de células T formados por la fusión de células T individuales, específicas para el antígeno, con tumores de células T para lograr la "inmortalidad". Un hibridoma que reconoció ovoalbúmina de pollo, presentada por un macrófago, dio lugar de manera espontánea a dos variantes: una de ellas había perdido el cromosoma que codifica la cadena α, y la otra, el que codifica la cadena β. Ninguna de las variantes reconoció el antígeno, pero cuando se las fusionó por métodos físicos cada una proporcionó la cadena complementaria del receptor y se restauró la reactividad con el antígeno.

Existen dos clases de receptores de células T

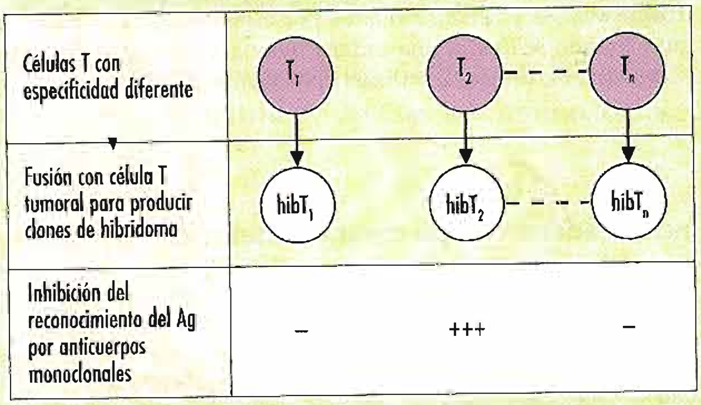
No mucho después del avance sensacional que representó la identificación del receptor αβ de la célula T, aparecieron publicaciones acerca de la existencia de un segundo tipo de receptor compuesto por cadenas γ y δ. Debido a que aparece más temprano en la ontogenia del timo, en oportunidades el receptor γδ se denomina **TCR1** y el receptor αβ como **TCR2** (véase pág. 256).

En los seres humanos las células γδ representan sólo el 0,5%-15% de las células T en sangre periférica, pero muestran un predominio mayor en el epitelio intestinal y en la piel. En contraposición, entre

Hito 4-1. Receptores de la célula T

Dado que los linfocitos T responden mediante la activación y la proliferación cuando se ponen en contacto con el antígeno presentado por células como macrófagos, parecía razonable postular que lo hacían por medio de receptores ubicados en su superficie. En cualquier caso, sería difícil adecuar las células T en el club de selección clonal si carecieran de esos receptores. Según Ockam (*ley de la parsimonia*, que afirma que el objetivo de la ciencia es presentar los hechos de la naturaleza en fórmulas conceptuales más simples y más económicas), la mayoría de los investigadores se decidieron por la hipótesis de que la naturaleza no incurriría en la extravagancia de hacer evolucionar dos especies de reconocimiento molecular absolutamente separadas para las células B y las células T, y se desperdiciaron muchos años infructuosos en la búsqueda del Santo Grial del receptor de la célula T con sueros antiinmunoglobulina o anticuerpos monoclonales (véase pág. 133). El éxito sólo vino cuando se utilizó un anticuerpo monoclonal dirigido contra el idiotipo de una célula para bloquear la respuesta al antígeno. Éste se identificó por su capacidad para bloquear un clon de célula T individual entre un número grande y se asumió de manera correcta que la estructura que permitía esta selectividad sería el sitio de combinación para el antígeno en el receptor de la célula T. La inmunoprecipitación con este anticuerpo puso de manifiesto un heterodímero unido por puentes disulfuros, compuesto de subunidades de 40-44 kDa (fig. H4-1.1).

El otro enfoque se dirigió directamente a los genes, con los siguientes argumentos. El receptor de la célula T sería una proteína integral de membrana no presente en las células B. En consecuencia, el mRNA polisómico de la célula T proveniente del retículo endoplasmático, que proporcionaría una fuente abundante del transcripto apropiado, se utilizó para preparar cDNA, a partir del que se extrajeron los genes comunes a ambas células B y T por hibridación con mRNA de célula B. Los clones específicos T resultantes se utilizaron para explorar un gen de célula T, que se reestructura en todas las células T maduras desde el punto de vista funcional, pero que permanece en su configuración de línea germinal en todos los otros tipos celulares (fig. H4-1.2). De este modo se descubrieron los genes que codifican la subunidad β del receptor de la célula T.


Células T con especificidad diferente
T_1
T_2
T_n
Fusión con célula T tumoral para producir clones de hibridoma
$hibT_1$
$hibT_2$
$hibT_n$
Inhibición del reconocimiento del Ag por anticuerpos monoclonales
–
+++
–

El Ac contra el receptor de célula T inmunoprecipita 2 cadenas

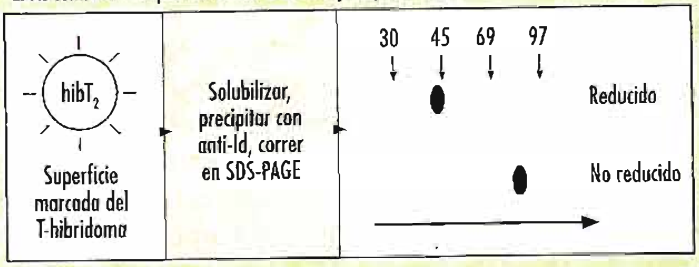

$hibT_2$
Superficie marcada del T-hibridoma
Solubilizar, precipitar con anti-Id, correr en SDS-PAGE
30
45
69
97
Reducido
No reducido

Fig. H4-1.1. El Ac contra el receptor de célula T (antiidiotipo) bloquea el reconocimiento del Ag. Basado en Haskins K, Kubo R, White J, Pigeon M, Kappler J & Marack P. *Journal of Experimental Medicine* 1983; 157, 1149. (Simplificado en parte.)

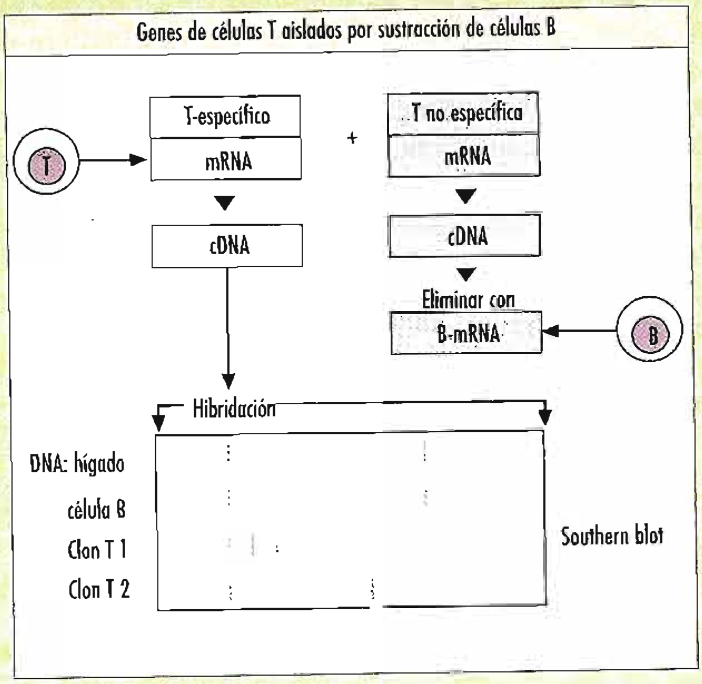

Genes de células T aislados por sustracción de células B
T
T-específico
mRNA
+
T no específica
mRNA
cDNA
cDNA
Eliminar con B-mRNA
B
Hibridación
DNA: hígado
célula B
Clon T 1
Clon T 2
Southern blot

Fig. H4-1.2. Aislamiento de los genes del receptor de célula T. Fragmentos de DNA de diferentes tamaños, producidos por una enzima de restricción, separados por electroforesis y probados con el gen de célula T. Las células T muestran el reordenamiento de uno de los dos genes de la línea germinal encontrado en las células hepáticas o en las células B. Basado en Hendrick SM, Cohen DI, Nielsen EA & Davis MM. *Nature* 1984; 308,149.

el 30% y el 80% de las células T de sangre en los rumiantes son γδ; esto refleja características fisiológicas algo diferentes, pero implica que estas células pueden desempeñar un papel importante en las respuestas inmunes. En general, las células T-γδ parecen tener una predilección marcada por el reconocimiento de ciertos tipos de antígenos microbianos, varios de los cuales son componentes de micobacterias, que incluyen moléculas de lípidos y glucolípidos así como proteínas del choque térmico.

La codificación de los receptores de células T es similar a la de las inmunoglobulinas

Los segmentos génicos que codifican las cadenas β del receptor de células T siguen una disposición de los segmentos *V, D, J* y constantes muy similar a la descrita para las inmunoglobulinas (fig. 4-4). De un modo paralelo, cuando se forma una célula T inmunocompetente tiene lugar un reordenamiento de los genes *V, D* y *J* para formar una secuencia *VDJ* continua. La evidencia más firme de que las células B y T utilizan mecanismos de recombinación similares deriva de estudios realizados en ratones con inmunodeficiencia combinada grave (IDSC), que tienen un único defecto autosómico recesivo que impide la recombinación exitosa de los segmentos *V, D* y *J* (véase pág. 46). Los mutantes homocigóticos son incapaces de producir células B y T inmunocompetentes y se observan defectos de secuencias idénticas en la formación de la unión *VDJ*, tanto en la línea de células pre-B como en la de pre-T.

Si hacemos referencia, en primer lugar, al cúmulo de la cadena β, uno de los dos genes $D\beta$ se reordena próximo a uno de los genes $J\beta$. Nótese que, debido al modo como se ordenan los genes, el primer gen $D\beta_1$ puede utilizar cualquiera de los 13 genes $J\beta$, pero $D\beta_2$ sólo puede escoger de los siete genes $J\beta_2$ (fig. 4-4). Uno de los 50 genes $V\beta$ se reordena próximo al segmento preformado $D\beta J\beta$. **La variabilidad en la formación de la unión** y la **inserción al azar de nucleótidos**, para crear la diversidad de la región N a cada lado del segmento *D*, son los mismos fenómenos que los observados en los reordenamientos del gen Ig. El análisis de la secuencia pone énfasis en la analogía con la molécula de anticuerpo; cada segmento *V* contiene dos regiones hipervariables, mientras que la secuencia de unión ***DJ*** proporciona la estructura **muy hipervariable** CDR3, lo que forma un total de seis regiones de complementariedad potencial que determina las zonas de unión con el antígeno en cada TCR (fig. 4-5). Como ocurre en la síntesis de anticuerpos, el intrón entre VDJ y C es eliminado del mRNA antes de la traducción, con la restricción de que estos reordenamientos incluyen genes del cúmulo $D\beta_2 J\beta_2$ que sólo pueden unirse a $C\beta_2$.

Todas las otras cadenas de los TCR son codificadas por genes formados por translocaciones similares. La mezcla de las cadenas α del gen carece de segmentos *D* pero posee una cantidad prodigiosa de segmentos *J*. El número de genes $V\gamma$ y $V\delta$ es pe-

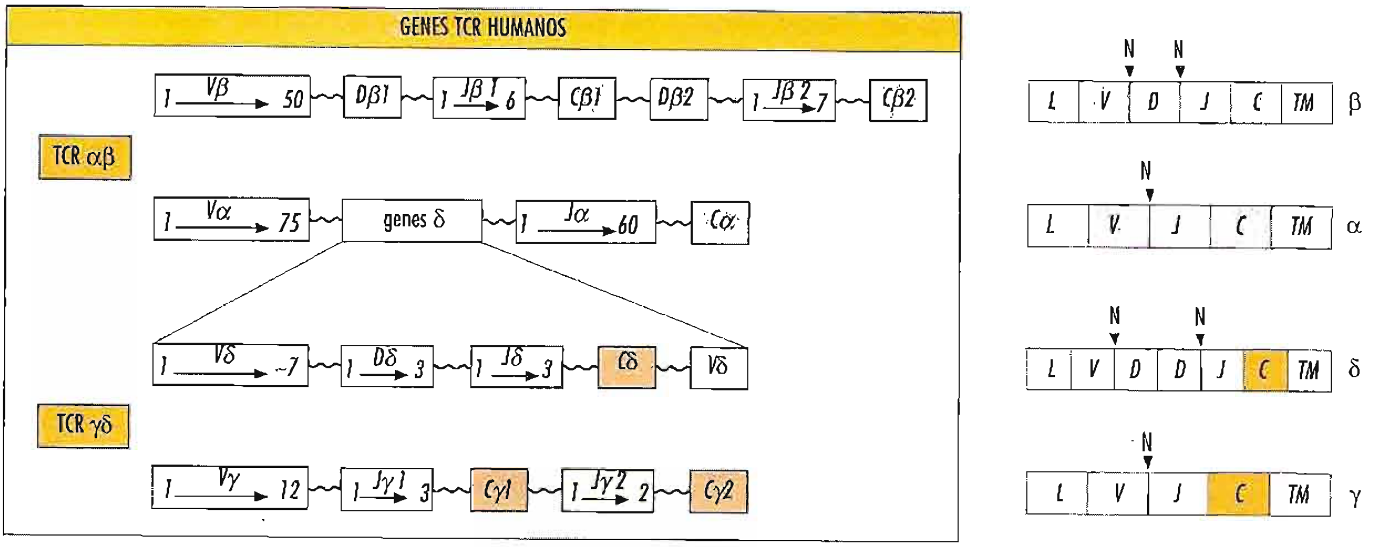


Fig. 4-4. Genes que codifican los receptores αβ y γδ de las células T. Los genes que codifican las cadenas δ yacen entre los cúmulos $V\alpha$ y $J\alpha$, y algunos segmentos *V* en esta región pueden utilizarse en las cadenas δ o α, es decir, como $V\alpha$ o $V\delta$. Los genes TCR se reordenan de un modo análogo al observado con los de las inmunoglobulinas, entre las que se incluye la diversidad de la región N en las uniones *V(D)J* (véase figs. 3-8 y 3-10). Uno de los genes *Vd* se encuentra por debajo del extremo 3′ del gen $C\delta$ y se reordena por un mecanismo transmutacional.

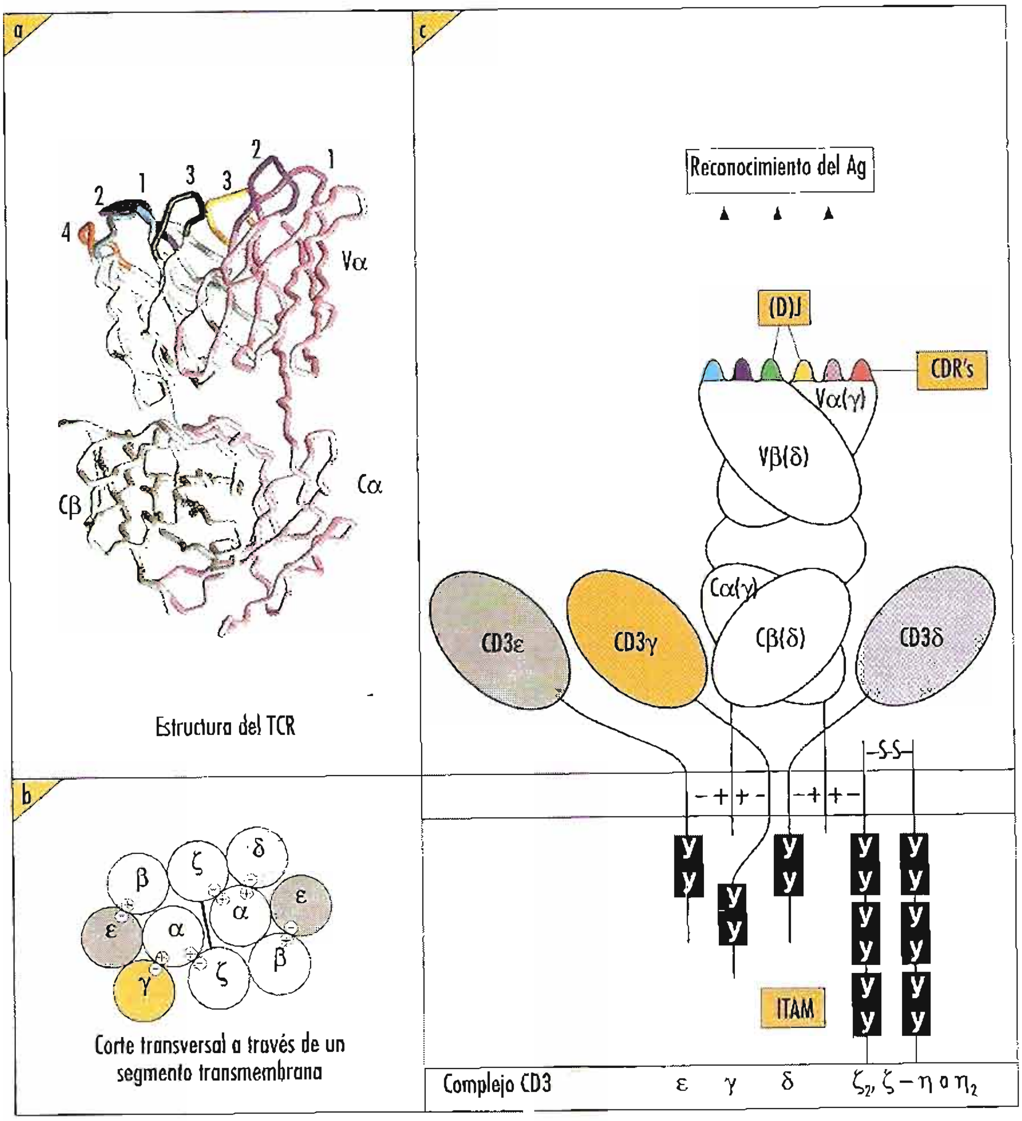


Fig. 4-5. Complejo CD3/receptor de célula T. En lo que se refiere a la estructura el TCR se asemeja al fragmento Fab de la inmunoglobulina que se une al antígeno. Los segmentos variables y constantes de la cadena α y β del TCR (VαCα /VβCβ), y de las correspondientes cadenas γ y δ del TCR γδ, desde el punto de vista estructural pertenecen a la familia de dominios tipo inmunoglobulina. a) En el modelo, las cadenas α de los CDR son de color magenta (CDR1), púrpura (CDR2) y amarillo (CDR3), mientras que las cadenas β de los CDR azulado (CDR1), azul marino (CDR2) y verde (CDR3). La cuarta región hipervariable de la cadena β (CDR4), que constituye parte del sitio de unión para algunos superantígenos (véase pág. 114), es de color anaranjado. (Reproducido de García K, et al. *Science* 1998; **279**:1166, con autorización.) Las asas CDR3 del TCR α y β codificadas por los genes *(D)J* son cortas; el asa CDR3 del TCRγ también es corta con una distribución de longitud limitada, pero el asa δ es larga con una distribución de longitud amplia, que se asemeja a los asas CDR3 de las cadenas liviana y pesada de la Ig, respectivamente. b) El TCR puede expresarse de a pares unidos al complejo CD3. Las cargas negativas en los segmentos transmembrana de las cadenas invariables del complejo CD3 se contactan con las cargas opuestas en las cadenas Cα y Cβ del TCR, como se ilustra. c) Los dominios citoplasmáticos de las cadenas peptídicas de CD3 contienen motivos de activación de inmunorreceptores basados en tirosina (ITAM; véase receptor de célula B, fig. 4-3) que toman contacto con las proteínas tirosina cinasas del src. Intente no confundir el TCR γδ y las cadenas de CD3 γδ.

queño en comparación con *Vα* y *Vβ*. Al igual que en la mezcla de la cadena α, el cúmulo de la cadena γ no posee segmentos *D*. La ubicación burda de los loci *δ*, incluidos dentro del cúmulo del gen *α*, produce células T que han sufrido una combinación *Vα-Jα* que no posee genes *δ* en el cromosoma reordenado; en otras palabras, los genes *δ* están eliminados por completo.

El complejo CD3 es una parte integral del receptor de la célula T

El complejo reconocimiento del antígeno por parte de la célula T y su contraparte en la célula B puede asemejarse a la acción de pelotones militares especializados, cuyo trabajo es enviar una señal en el momento que se avista el enemigo. Cuando el TCR "avista el enemigo", o sea que se une al antígeno, envía al interior del linfocito T una señal, mediante un complejo asociado de polipéptidos transmembrana (**CD3**) con el fin de instruir a la célula para que despierte de su estado latente G0 y haga algo útil, como convertirse en una célula efectora. En todas las células T competentes, el receptor para el antígeno, si bien no está unido de manera covalente, está en íntima relación con el CD3, en un complejo que, como se sabe en la actualidad, puede contener dos unidades de reconocimiento heterodiméricas TCR αβ o γδ en íntimo contacto con una molécula de las cadenas polipeptídicas invariables γ y δ del CD3, dos moléculas de CD3ε, más el dímero ζ-ζ unido por puentes disulfuro. En consecuencia, el complejo total posee la estructura TCR_2-$CD3\gamma\delta\varepsilon_2\zeta_2$ (fig. 4-5b). Los motivos de tirosina ITAM (véase epígrafe de la figura 4-3) se asocian con las tirosina cinasas, por lo que transducen señales generadas por la unión del ligando al TCR. En los ratones, una o ambas de las cadenas ζ puede ser reemplazada por una variante empalmada proveniente del gen ζ denominada η. En las células natural killer (NK), la cadena ζ también se asocia con el receptor FcγRIIIA, donde también actúa como parte del mecanismo de transducción de la señal en ese contexto.

GENERACIÓN DE DIVERSIDAD PARA EL RECONOCIMIENTO DEL ANTÍGENO

Sabemos que el sistema inmune tiene que ser capaz de reconocer virtualmente cualquier patógeno que haya surgido o pueda surgir. La imponente solución genética al problema de anticiparse a un futuro imprevisible involucra la generación de millones de receptores específicos para antígenos diferentes, tal vez muchísimos más que los que necesitará el individuo durante toda su vida. Ya que esto excede en gran medida la cantidad estimada de alrededor de 31.000 genes en el organismo, debe haber alguna manera ingeniosa de generar la totalidad de esta diversidad, en particular dado que en un ser humano individual el número total de genes *V, D, J* y *C* que codifican anticuerpos y receptores de células T ronda los 400. De hecho existen, y podemos examinar en la actualidad de manera provechosa, los mecanismos surgidos para generar la tremenda diversidad a partir de mezclas de genes tan limitadas.

Amplificación intracatenaria de la diversidad

La combinación al azar de VDJ aumenta la diversidad en proporción geométrica

Así como en un juego de construcción para niños, como el Lego, podemos utilizar un número relativamente pequeño de diferentes piezas para crear una enorme variedad de obras maestras de la arquitectura, los segmentos génicos individuales de los receptores pueden considerarse los ladrillos para formar una multiplicidad de receptores específicos para el antígeno en las células B y T.

Las regiones variables de la cadena liviana se forman a partir de los segmentos *V* y *J*, y las regiones variables de la cadena pesada a partir de los segmentos *V, D* y *J*. Como ya se describió en el capítulo anterior, las enzimas RAG-1 y RAG-2 reconocen secuencias señal de recombinación (RSS) adyacentes a las secuencias codificadoras de estos segmentos génicos. Las RSS son heptámeros y nonanómeros conservados, separados por espaciadores de 12 o de 23 pares de bases (véase pág. 47), presentes en el extremo 3′ de cada segmento *V*, en ambos extremos 5′ y 3′ de cada segmento *D*, y en el extremo 5′ de cada segmento *J* (véase fig. 4-8). Los asociados con los segmentos V_H y de J_H tienen espaciadores de 23 pares de bases; los que flanquean los segmentos D_H poseen espaciadores de 12 pares de bases. Una RSS con un espaciador de 23 pares de bases sólo puede recombinarse con una RSS que contiene un espaciador de 12 pares de bases, según la denominada "regla 12/23". Así, el ordenamiento de las RSS de los genes de la cadena pesada de inmunoglobulina asegura que un segmento *D* siempre esté incluido en el reordenamiento; V_H no puede unirse de manera directa al J_H, dado que ambos poseen espaciadores de 23 pares de bases. Una observancia comparable existe en los segmentos *V, D* y *J* de la cadena β del TCR.

Para ver cómo se genera la diversidad de la secuencia, tomemos como ejemplo los genes de la cadena pesada de inmunoglobulina (cuadro 4-1). Si bien la cantidad precisa de segmentos génicos varía entre los distintos individuos, lo típico es que haya alrededor de 25 segmentos funcionales *D* y seis *J*. Si se produjese una **unión aleatoria** completa de cualquier segmento *D* con cualquier segmento *J* (véase fig. 3-8), debiéramos tener en este individuo la posibilidad de generar 150 combinaciones *DJ* (25×6). Pasemos a la próxima etapa. Dado que cada uno de estos 150 segmentos de *DJ* podría unirse con cualquiera de las casi 50 secuencias funcionales V_H, el repertorio potencial neto de genes *VDJ* que codifi-

Cuadro 4-1. *Cálculos de la diversidad de genes V en seres humanos. Se sabe que el número preciso de segmentos génicos presenta variaciones individuales; quizás entre 40 y 70 en el caso de los genes* V_H, *por ejemplo, de modo que estos cálculos representan cifras "típicas". Se calcula el número de especificidades generado por la combinación directa al azar de segmentos de la línea germinal. Éstos aumentarán por los mecanismos adicionales que se enumeran: *supuesto mínimo de alrededor de 10 variantes para las cadenas carentes de segmentos D y 100 para las cadenas con segmentos D. El cálculo para la cadena* β *del receptor de célula T requiere una explicación adicional. El primero de los dos segmentos D,* $D\beta_1$ *puede combinarse con 50 genes V y con la totalidad de los 13 genes* $J\beta_1$ *y* $J\beta_2$. $D\beta_2$ *se comporta de manera similar, pero sólo puede combinarse con los siete genes* $J\beta_2$ *corriente abajo*

	γδTCR (TCR1)		αβTCR (TCR2)		Ig		
						L	
	γ	δ	α	β	H	κ	λ
Segmentos del gen *V*	12	~8	75	50	50	40	30
Segmentos del gen *D*	-	3	-	1,1	25	-	-
Segmentos del gen *J*	3,2	3	60	6,7	6	5	4
Unión de combinación al azar	*V* × *J*	*V* × *D* × *J*	*V* × *J*	*V* × *D* × *J*	*V* × *D* × *J*	*V* × *J*	*V* × *J*
(sin diversidad de la unión)	12 × 5	8 × 3 × 3	75 × 60	50 (13+7)	50 x 25 × 6	40 × 5	30 × 4
Total	60	72	4.500	1.000	7.500	200	120
Heterodímeros combinatorios	60 × 72		4.500 × 1000		7.500 × 200		7.500 × 120
Total (redondeado)	$4{,}3 \times 10^3$		$4{,}5 \times 10^6$		$1{,}5 \times 10^6$		$0{,}9 \times 10^6$
Otros mecanismos: D en tres marcos de lectura, diversidad funcional, inserción en la región N;* $\times 10^3$	$4{,}3 \times 10^6$		$4{,}5 \times 10^9$		$1{,}5 \times 10^9$		$0{,}9 \times 10^9$
Mutación somática	–		–		+++		+++

can la región variable de la cadena pesada sería 50 × 150 = 7.500. En otras palabras, sólo tomando los genes *V, D* y *J,* que en este ejemplo suman de modo aritmético 81, hemos producido un espectro de alrededor de 7.500 regiones variables diferentes por la **recombinación geométrica** de los elementos básicos. Pero esto es sólo el comienzo.

Jugando con las uniones

Otra táctica para conseguir una mayor variación del repertorio de la línea germinal comprende recombinaciones limítrofes variables de *V, D* y *J* para producir diferentes secuencias de unión (fig. 4-6).

Como se mencionó antes, la diversidad adicional se produce a partir de la generación de secuencias palindrómicas (elementos P, fig. 4-7a) que se originan de la formación de estructuras similares a horquillas durante el proceso de recombinación y de la inserción de nucleótidos en la región N entre los segmentos *V, D* y *J,* un proceso asociado con la expresión de desoxinucleotidil transferasa terminal (fig. 4-7b). Mientras que estos mecanismos agregan nucleótidos a la secuencia, puede crearse aun más diversidad por la actividad de las nucleasas en los extremos de la hebra expuestos a la eliminación de nucleótidos. Estas maniobras aumentan en gran medida el repertorio, especialmente importante para los genes γ y δ del receptor de la célula, que de otro modo es bastante limitado en cantidad.

Mecanismos adicionales se relacionan de manera específica con la secuencia de la región *D*: en particular en el caso de los genes del TCR δ, donde el segmento *D* puede leerse en tres marcos diferentes y pueden unirse dos segmentos *D*; tales combinaciones *DD* producen una tercera región determinante de complementariedad más larga (CDR3) que se encuentra en otros TCR o moléculas de anticuerpos.

Dado que en las diversas cadenas del receptor el CDR3 está compuesto en esencia por regiones entre los segmentos de *V(D)J,* donde los mecanismos de diversidad de unión pueden introducir un grado muy alto de variabilidad de aminoácidos, se puede ver la razón por la que este asa hipervariable por lo común es el determinante máximo de la delicada especificidad de unión a estas moléculas.

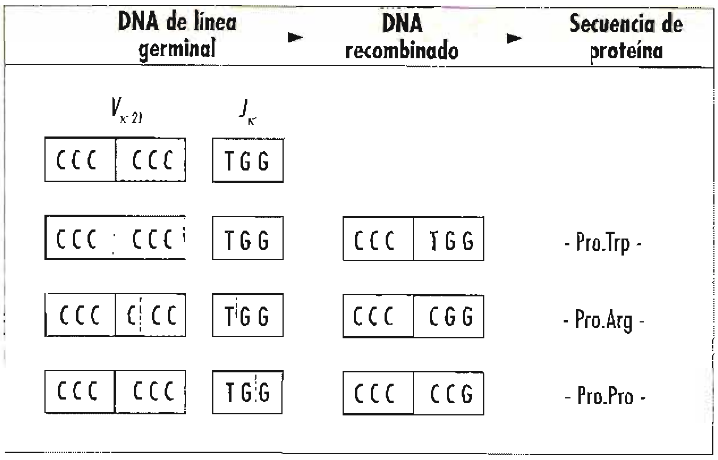

DNA de línea germinal
DNA recombinado
Secuencia de proteína
$V_{\kappa 21}$
J_κ
CCC CCC
TGG
CCC TGG
- Pro.Trp -
CCC CGG
- Pro.Arg -
CCC CCG
- Pro.Pro -

Fig. 4-6. **Diversidad de uniones entre dos segmentos de línea germinal que producen tres variantes de secuencias de proteína.** El triplete de nucleótidos eliminado por la formación de empalmes aparece de color azul más oscuro.

Corrección del receptor

Observaciones recientes establecieron que los linfocitos no necesariamente se pegan con el receptor de antígeno que ellos producen en un comienzo; si no les gusta, pueden cambiarlo. El reemplazo de un receptor no deseado por otro de características más aceptables se denomina corrección del receptor. Este proceso fue descrito tanto para las inmunoglobulinas como para el TCR, lo que permite el reemplazo de reordenamientos no funcionales o especificidades autorreactivas. Además, la corrección del receptor en la periferia puede rescatar células B de baja afinidad, provenientes de la muerte celular por apoptosis, mediante el reemplazo de un receptor de baja afinidad por uno capaz de ser seleccionado con afinidad más alta. El hecho de que esto ocurra en la periferia está sustentado por el hallazgo de que las células B maduras en los centros germinales pueden expresar RAG-1 y RAG-2 que median el proceso de reordenamiento.

Pero, ¿cómo se realiza este trabajo de corrección del receptor? En el caso de las cadenas del receptor que carecen de segmentos génicos *D* –la cadena liviana de la inmunoglobulina y la cadena α del TCR– puede producirse un reordenamiento secundario por un segmento del gen *V* en la dirección del segmento *VJ* reordenado con anterioridad por recombinación con el extremo 3′ de la secuencia del gen *J*; ambos segmentos presentan RSS intactos que son compatibles (fig. 4-8a). Sin embargo, en el caso de las cadenas pesadas de la inmunoglobulina y las cadenas β del TCR el proceso de reordenamiento del *VDJ* suprime la totalidad de los RSS asociados con el segmento *D* (fig. 4-8b). Dado que V_H y J_H poseen espaciadores de 23 pares de bases en sus RSS, no pueden recombinarse: esto rompería la regla 12/23. Este obstáculo evidente para la corrección del receptor de estas cadenas puede vencerse por la presencia de una secuencia cerca del extremo 3′ de las secuencias que codifican *V* y que puede funcionar como un RSS sustituto, tal que el nuevo segmento *V*

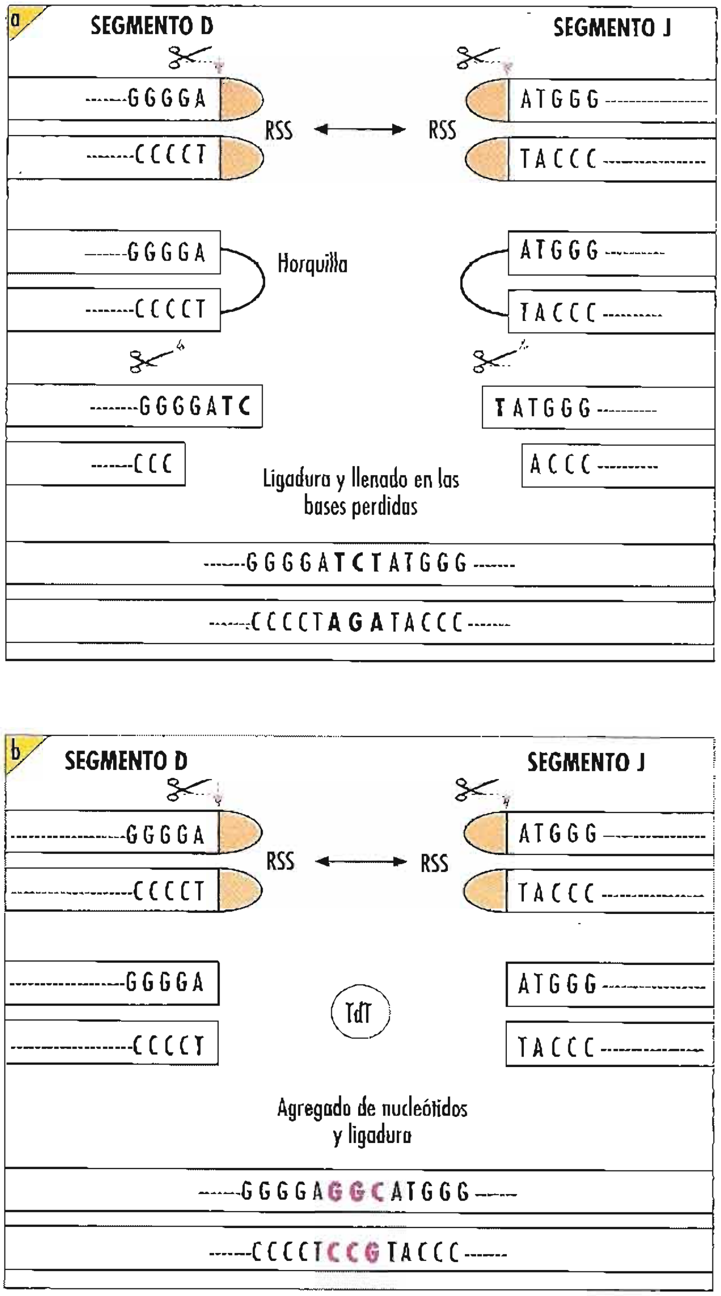

a
SEGMENTO D
SEGMENTO J
GGGGA
CCCCT
RSS
RSS
ATGGG
TACCC
GGGGA
CCCCT
Horquilla
ATGGG
TACCC
GGGGATC
TATGGG
CCC
Ligadura y llenado en las bases perdidas
ACCC
GGGGATCTATGGG
CCCCTAGATACCC
b
SEGMENTO D
SEGMENTO J
GGGGA
CCCCT
RSS
RSS
ATGGG
TACCC
GGGGA
CCCCT
TdT
ATGGG
TACCC
Agregado de nucleótidos y ligadura
GGGGAGGCATGGG
CCCCTCCGTACCC

Fig. 4-7. **Diversidad de los elementos P y de la región N.** Además de la diversidad de la unión (véase fig. 4-6), los nucleótidos adicionales pueden incorporarse en la última secuencia. a) Esto puede producirse cuando se crean estructuras de asa con forma de horquilla entre las dos hebras de DNA luego del clivaje en el RSS, y un siguiente clivaje de una hebra produce una proyección que actúa como un molde para el agregado de nucleótidos, lo que crea una secuencia **P** alindrómica (elemento **P**, aquí GATC/CTAG y TA/AT, con la secuencia recientemente agregada en negrita). b) Los nucleótidos pueden agregarse de un modo **No** templado (sin molde; diversidad de región **N**, indicada por los nucleótidos en color rojo) por la enzima desoxinucleotidil transferasa terminal (TdT).

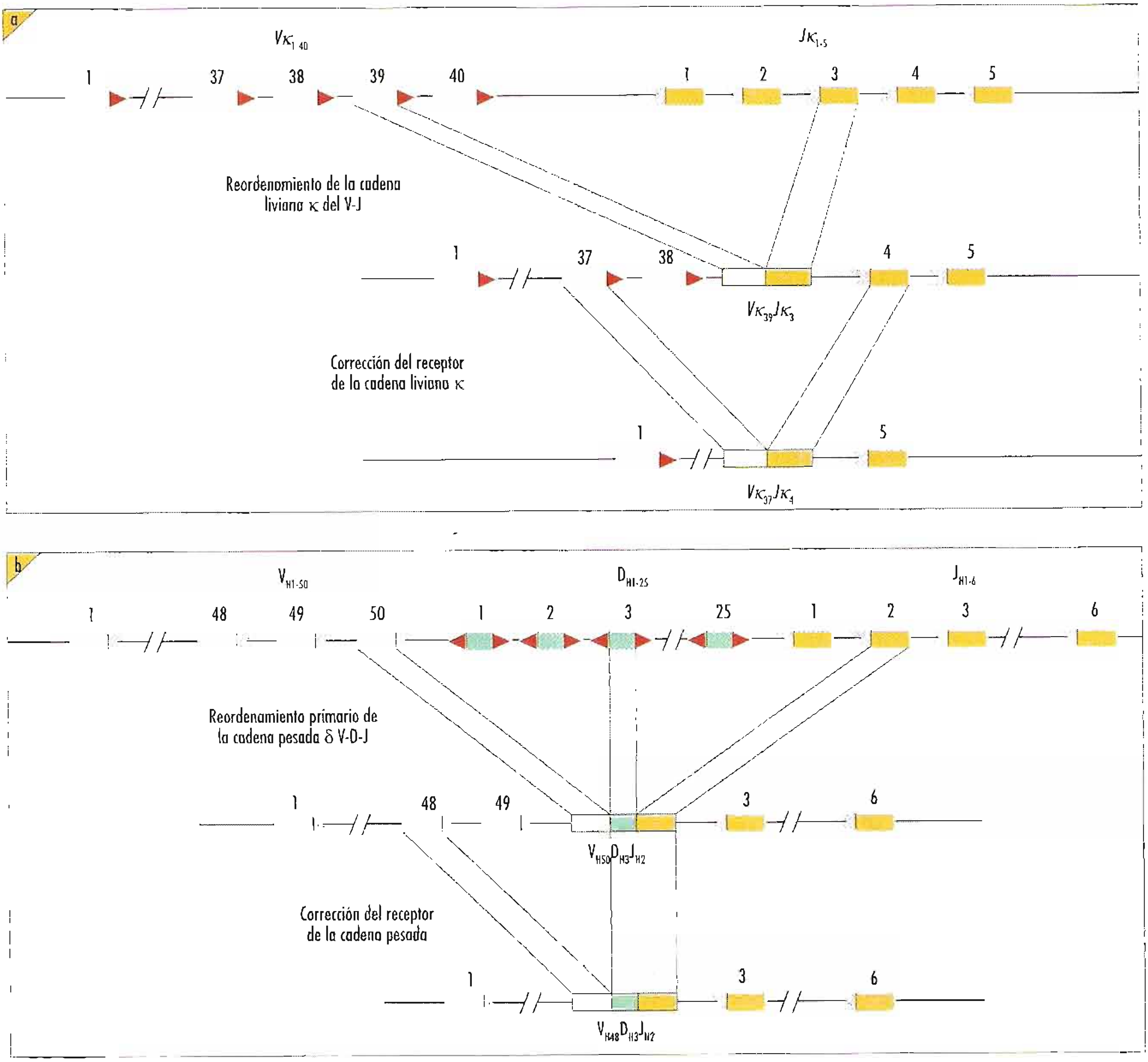

a
Vκ1-40
Jκ1-5
1
37
38
39
40
1
2
3
4
5
Reordenamiento de la cadena liviana κ del V-J
1
37
38
4
5
Vκ39Jκ3
Corrección del receptor de la cadena liviana κ
1
5
Vκ37Jκ4
b
VH1-50
DH1-25
JH1-6
1
48
49
50
1
2
3
25
1
2
3
6
Reordenamiento primario de la cadena pesada δ V-D-J
1
48
49
3
6
VH50DH3JH2
Corrección del receptor de la cadena pesada
1
3
6
VH48DH3JH2

Fig. 4-8. Corrección del receptor. **a)** En la cadena liviana de la inmunoglobulina o TCRα las secuencias señal de recombinación (RSS; motivos heptámeros monámeros) en el extremo 3' de cada segmento variable *(V)* y en el extremo 5' de cada segmento de unión *(J)* son compatibles entre sí y, en consecuencia, puede producirse un nuevo reordenamiento total, como se muestra en el dibujo. Esto produciría un receptor con una secuencia variable de la cadena liviana diferente (en este ejemplo $V\kappa_{37}/\kappa_4$ que reemplaza a $V\kappa_{40}/\kappa_3$) junto con la cadena pesada original. **b)** Con respecto a la cadena pesada de la inmunoglobulina o a la cadena β del TCR la organización de las secuencias heptámeros-nonámeros en la RSS evita un segmento *V* directamente por recombinación con el segmento *J*. Esto es, la denominada regla 12/23 por la que las secuencias heptámeros-nonámeros asociadas con un espaciador de 23 pares de bases (coloreado de violeta) sólo pueden aparear las bases con secuencias heptámeros-nonámeros que contengan un espaciador de 12 pares de bases (coloreado de rojo). Las cadenas pesadas *V* y *J* poseen un RSS con un espaciador de 23 pares de bases y por esto es un no iniciador. Además, todos los segmentos D no reordenados se suprimieron, de modo que no hay espaciadores remanentes de 12 pares de bases. Es probable que esta barrera evidente al reordenamiento secundario se venza por la presencia de una secuencia tipo RSS cerca del extremo 3' de las secuencias codificadas por el gen *V*, de modo que sólo se reemplaza el segmento del gen *V* (en el ejemplo mostrado, la secuencia $V_{H48}D_{H3}J_{H2}$ reemplaza a $V_{H50}D_{H3}J_{H2}$).

simplemente reemplazaría al *V* reordenado con anterioridad, mientras mantiene la misma secuencia *D* y *J* (fig. 4-8b). Es probable que éste sea un proceso relativamente ineficaz y, en consecuencia, la corrección del receptor puede llevarse a cabo con más facilidad en las cadenas livianas de la inmunoglobulina y en las cadenas α del TCR que en las cadenas pesadas de la inmunoglobulina y en las cadenas

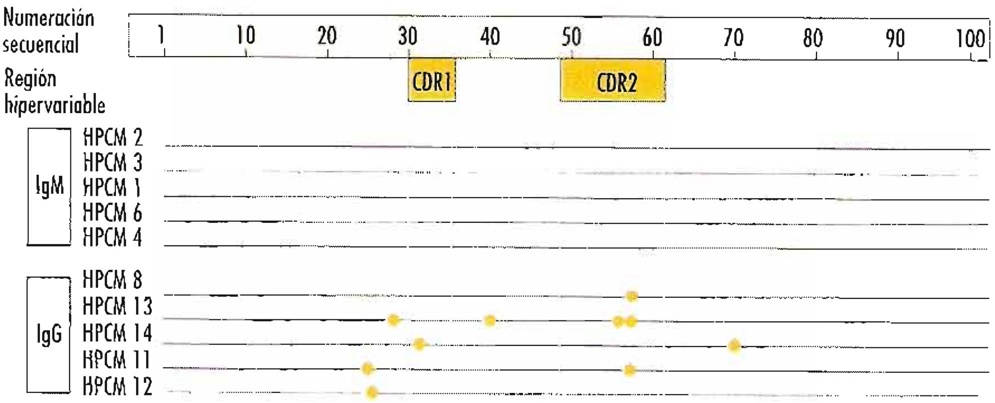


Fig. 4-9. Mutaciones en un gen de línea germinal. Las secuencias de aminoácidos de las regiones V_H de cinco IgM y cinco IgG de anticuerpos monoclonales contra fosforilcolina generados durante una respuesta antineumocócica en un solo ratón se comparan con la estructura primaria de la secuencia de línea germinal T15. Una línea indica la identidad con el prototipo T15 y un círculo anaranjado una sola diferencia de aminoácido. Las mutaciones sólo se produjeron en las moléculas de IgG y se observan en ambos segmentos, hipervariable y del armazón. (Según Gearhart P.J. *Immunology Today* 1982; 3,107.) Mientras que en algunos estudios la hipermutación somática se observó en los anticuerpos IgM, la cantidad de mutaciones por lo común aumenta en gran medida luego del cambio de clase.

β del TCR. De hecho, se sugirió que la cadena α del TCR puede sufrir una serie de reordenamientos con deleciones continuas de segmentos *VJ* previamente funcionales, hasta que se produce un TCR que puede ser seleccionado.

Amplificación intercatenaria

El sistema inmune realizó un ingenioso avance al utilizar dos tipos diferentes de cadenas para el reconocimiento de las moléculas, porque la combinación no sólo produce un sitio de combinación más grande, con una afinidad potencialmente mayor, sino también una nueva variabilidad. El apareamiento de la cadena pesada-liviana entre las inmunoglobulinas parece ser en gran medida al azar y, por consiguiente, dos células B pueden emplear la misma cadena pesada pero diferentes cadenas livianas. Esta vía para producir anticuerpos de diferente especificidad se observa con facilidad in vitro, donde las cadenas livianas diferentes contra la misma cadena pesada pueden utilizarse ya sea para realizar un cambio delicado o a veces incluso para alterar la especificidad final del anticuerpo. En general, la evidencia disponible sugiere que la contribución principal in vivo, en lo que se refiere a diversidad y especificidad, proviene de la cadena pesada, quizá relacionada con el hecho de que la cadena pesada CDR3 lleva a una situación decisiva en la carrera hacia la diversidad, por decirlo así, codificada por las uniones entre los tres segmentos génicos *V, D y J*.

Esta asociación al azar entre las cadenas γ y δ del TCR, las cadenas α y β del TCR y las cadenas pesada y liviana de la Ig brinda un aumento geométrico adicional en la diversidad. En el cuadro 4-1 puede observarse que alrededor de 230 segmentos de línea germinal de receptores funcionales de células T y 160 de Ig funcionales pueden dar lugar a 4-5 millones y 2,4 millones de combinaciones diferentes, respectivamente, por asociaciones directas, *sin* tomar en consideración todos los mecanismos elegantes de unión descritos con anterioridad. ¡Saquémonos el sombrero frente a la evolución!

Hipermutación somática

Hay evidencia indiscutible de que los genes de la región *V* de la inmunoglobulina pueden sufrir una significativa **hipermutación somática**. El análisis de 18 mielomas λ murinos reveló que 12 presentaban una estructura idéntica, cuatro mostraron sólo un cambio de aminoácido, uno tenía dos cambios y otro, cuatro cambios, todos dentro de las regiones hipervariables e indicadores de hipermutación somática del único gen de línea germinal λ del ratón. En otro estudio, luego de la inmunización con antígeno neumocócico, un único gen de línea germinal T15V_H dio lugar por mutación a diversos genes diferentes V_H, los que en su totalidad codificaron anticuerpos antifosforilcolina (fig. 4-9).

Varias características de este fenómeno de diversificación somática merecen una mención especial. Las mutaciones son el resultado de sustituciones únicas del nucleótido, restringidas a la región variable, separadas de la región constante, y se producen tanto en las regiones del armazón como en la hipervariable. La tasa de mutación es notablemente alta, alrededor de 10^{-4} – 10^{-3} por par de base por generación, que es cerca de un millón de veces más alta que la de otros genes de mamíferos. Además, el mecanismo de mutación está ligado de alguna manera con el cambio de clase, ya que la hipermutación es más frecuente en los anticuerpos del tipo IgG e IgA que en los de tipo IgM y afecta a ambas cadenas, pesada (fig. 4-9) y liviana. Sin embargo, los genes V_H presentan en promedio más mutaciones que los genes V_L. Esto podría ser una consecuencia de que la corrección del receptor actúa con más frecuencia en las cadenas livianas, ya que esto tendría el efecto de limpiar la pizarra en lo que respecta a las mutaciones del gen *V* de las cadenas livianas, mientras mantiene ya acumuladas las mutaciones puntuales del gen *V* de la cadena pesada.

La hipermutación somática no parece contribuir de manera significativa al repertorio disponible en las fases tempranas de la respuesta primaria, pero se produce durante la generación de memoria y es tal vez responsable de poner a punto la respuesta hacia la afinidad más alta. Se desconoce el mecanismo responsable del gran incremento de la frecuencia de mutación en los genes de la inmunoglobulina, pero, de manera intrigante, hace poco se demostró que el protooncogén *bcl-6* también sufre hipermutación somática en alrededor de un tercio de las células B del centro germinal y células B de memoria normales. La tasa de mutación es sólo de alrededor del 10% de las observadas en los genes de inmunoglobulinas, pero no obstante es mayor que la observada en otros genes en las células B. Además, los tipos de mutación son extremadamente similares a los observados en los genes *V* de inmunoglobulinas, lo que sugiere un mecanismo común. La hipótesis con más adeptos es que la hipermutación somática se asocia con un error derivado de la DNA polimerasa, la que está acoplada a la transcripción del RNA.

Datos recientes subrayan que aún existe otro mecanismo para crear una diversidad adicional. Éste involucra la inserción o deleción de intervalos cortos de nucleótidos dentro de la secuencia del gen *V* de la inmunoglobulina, tanto de la cadena pesada como de la liviana. Este mecanismo tendría un efecto intermedio en el reconocimiento del antígeno, que es más espectacular que una única mutación puntual, pero es considerablemente más sutil que la corrección del receptor. En un estudio se empleó la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR) para amplificar los genes V_H y V_L expresados a partir de 365 células B IgG$^+$ y se mostró que el 6,5% de las células contenían inserciones o deleciones de nucleótidos. Los transcriptos fueron dejados en el armazón y no se introdujeron codones de detención con estas modificaciones. Es probable que el porcentaje de células que contienen estas alteraciones esté subestimado. Todas las inserciones y deleciones estaban dentro del CDR1, del CDR2 o de ambos, o bien en sus proximidades. La diversidad de la región N del CDR3 significó que no era posible analizar la tercera región hipervariable para las inserciones o deleciones de este tipo y, por consiguiente, serían pasadas por alto en el análisis. El hecho de que las alteraciones estaban asociadas con CDR sugiere que las células B habían estado sujetas a la selección por el antígeno. También fue notable que las inserciones y las deleciones, producidas en manchas calientes conocidas para la mutación puntual somática, y el mismo error derivado de la DNA polimerasa responsable de la hipermutación somática también puede estar involucrado aquí. Las secuencias a menudo fueron una duplicación de una adyacente, en el caso de las inserciones, o una deleción de una secuencia repetida conocida. Este tipo de modificación puede, como en la corrección del receptor, desempeñar un papel importante en la eliminación de la autorreactividad y también en el incremento de la afinidad del anticuerpo.

Por otra parte, **los genes del receptor de la célula T por lo común no sufren hipermutación somática**. Se argumentó que ésta sería una medida de seguridad útil, ya que las células T son seleccionadas de manera positiva en el timo por reacciones débiles con el mismo CMH (véase pág. 255), de modo que las mutaciones podrían conducir con facilidad a la aparición de receptores autorreactivos de alta afinidad y autoinmunidad.

Uno puede preguntarse cómo es que esta serie de genes de línea germinal está protegida de la tendencia genética. Con una genoteca de alrededor de 390 genes *V*, *D* y *J* funcionales, la selección actuaría sólo de manera débil en cualquier gen aislado que hubiera estado incapacitado desde el punto de vista funcional por la mutación; esto implica que una parte importante de la genoteca puede perderse antes de que actúen las fuerzas de la evolución. Una idea es que cada subfamilia de genes *V* relacionados contiene una codificación prototipo para un anticuerpo indispensable para la protección contra algún patógeno común, de modo que la mutación en este gen colocara al huésped en situación de desventaja y, en consecuencia, no se lo seleccionaría. Si cualquiera de los otros genes íntimamente relacionados en su grupo se torna defectuoso por una mutación, este gen indispensable podría repararlo por conversión génica, un mecanismo por el cual, se recordará, dos genes interactúan de tal modo que la secuencia de nucleótidos de parte o de la totalidad de uno se convierte en idéntica a la del otro. Si bien la conversión génica ha sido invocada como responsable de la diversificación de los genes del CMH, también puede actuar en otras familias de genes para mantener cierto grado de homogeneidad de la secuencia. Por cierto, se utiliza en gran medida, por ejemplo, por los pollos y conejos para generar diversidad de inmunoglobulinas. En el conejo sólo un único gen V_H de línea germinal es reordenado en la mayoría de las células B; éste luego se transforma en sustrato para la conversión génica por uno de la gran cantidad de seudogenes V_H. En los seres humanos, también hay grandes cantidades de seudogenes y genes huérfanos (localizados por fuera del locus génico, a menudo en un cromosoma completamente diferente) de V_H; en realidad estos exceden en número a los genes funcionales, aunque hasta el presente no hay evidencia alguna de que sean utilizados en los procesos de conversión génica.

RECEPTORES NK

Una de las principales funciones de las células natural killer (NK) es "patrullar" el organismo en la búsqueda de células que han perdido la expresión normal de las moléculas clase I del CMH presentes de manera ubicua en él. Estas células anormales por lo común son malignas o están infectadas por un microorganismo, lo que interfiere la expresión de las moléculas clase I. Las células NK llevan a cabo su tarea mediante el empleo de dos conjuntos de receptores: los *receptores de activación*, que reconocen las moléculas en su conjunto presentes en todas las superficies celulares, y los *receptores inhibitorios*, que reconocen las moléculas clase I del CMH. Una vez ligados, la indicación de los receptores de activación a la célula NK es matar a la célula blanco, secretar citocinas o ambas actividades. Esta situación potencialmente anárquica, por la cual las células NK atacarían todas las células del organismo, por lo general se previene debido al reconocimiento de las moléculas clase I del CMH mediante los receptores inhibitorios (fig. 4-10). Cualquier célula nucleada que carece de moléculas clase I del CMH no librará combate a los receptores inhibitorios y activará sólo los receptores de activación, lo que da como resultado su ejecución (muerte) por las células NK.

Un segundo modo por el cual las células NK producen la muerte es la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (*a*ntibody-*d*ependent *c*ellular *c*ytotoxicity - ADCC, véase pág. 36) para la cual ellas están provistas de receptores FcγRIII con el objeto de reconocer las células blanco recubiertas de anticuerpos (fig. 4- 10).

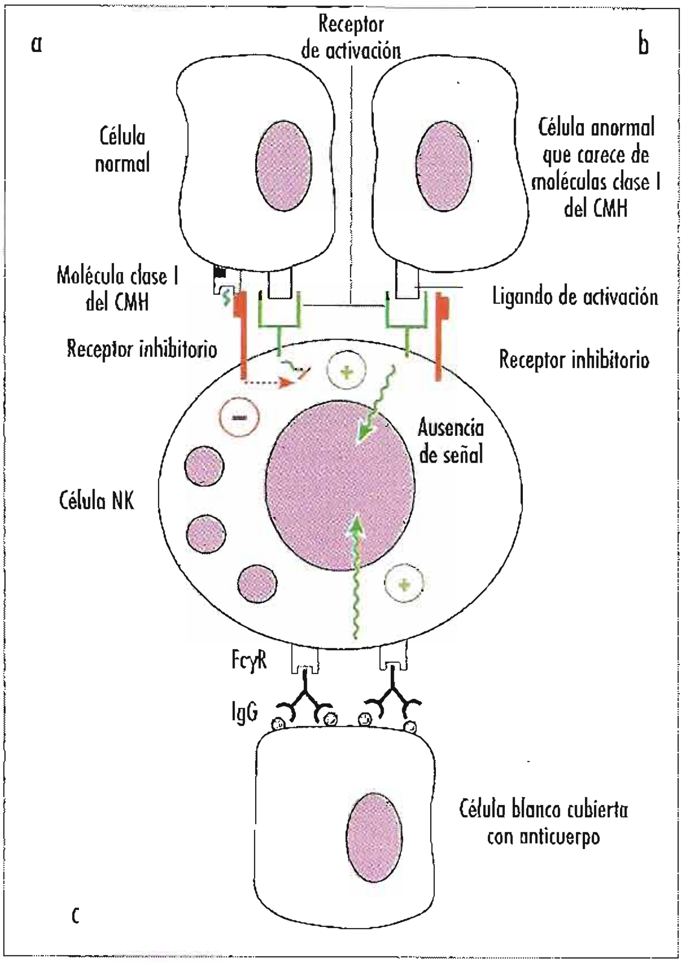


Fig. 4-10. Células natural killer (NK). Las células NK poseen receptores de activación e inhibitorios. La participación de un receptor de activación mediante su ligando envía una señal estimuladora al interior de la célula NK, pero esto por lo común se subvierte por una señal transmitida en el reconocimiento de las moléculas clase I del CMH por un receptor inhibitorio (a). Cualquier célula nucleada carente de moléculas clase I se considera anormal, y es destruida luego de una transmisión no impedida de la señal de activación (b). Muchos receptores NK pertenecen ya sea a la familia de receptores de las células asesinas (killer) del tipo inmunoglobulina (KIR) o a la familia del dominio lectina tipo C. Ambas familias contienen algunos miembros activadores y otros inhibitorios. Los receptores inhibitorios poseen motivos de inhibición de inmunorreceptores basados en tirosina (ITIM) en sus dominios citoplasmáticos. Los receptores de activación carecen de ITIM y poseen un residuo con carga en su secuencia transmembrana que posibilita su asociación con proteínas adaptadoras que contienen motivos de activación de inmunorreceptores basados en tirosina (ITAM), como DAP12, CD3 con cadena ζ o FcR con cadena γ. Con respecto a la familia FIR, las isoformas con un dominio citoplasmático largo (KIR2DL y KIR3DL, en función de si poseen 2 o 3 dominios extracelulares tipo Ig) poseen ITIM y por consiguiente son inhibitorios, mientras que los que presentan un dominio citoplasmático corto (KIR2DS y KIR3DS) que carecen de ITIM, se asocian con DAP12, y por consiguiente son activadores. Los KIR inhibitorios reconocen HLA-A, HLA-B y HLA-C independiente de la unión peptídica, mientras que algunos de los receptores inhibitorios NK lectina tipo-C interactúan con HLA-E que presentan péptidos de secuencia de señal derivadas de otras moléculas clase I del HLA. Los miembros de la familia lectina tipo-C inhibitorios son CD94/NKG2A, y, en el ratón, NKR-P1B y Ly-49C, mientras que los activadores son CD94/NKG2C, CD94/NKG2D y, en los murinos, Ly 49D. La molécula del CMH no clásica inducible por el estrés es un ligando importante para NKG2D. Las células NK por lo común poseen diversos receptores inhibitorios y activadores diferentes; es el equilibrio de señales provenientes de ellos lo que determina si la célula se activa. Como ocurre con otros tipos celulares, las células NK pueden utilizar sus receptores Fcγ para mediar en la ADCC en las células blanco cubiertas con anticuerpo (c).

COMPLEJO MAYOR DE HISTOCOMPATIBILIDAD (CMH)

Las moléculas dentro de este complejo fueron definidas en un comienzo por su capacidad de provocar el rechazo vigoroso de injertos entre diferentes miembros de una especie (hito 4-2). En el capítulo 2 se hizo una breve mención de la necesidad de que los antígenos se asocien con las moléculas clase I o clase II del CMH para que los linfocitos T puedan reconocerlos. El objetivo ahora es brindar una visión más profunda de la naturaleza de estas moléculas.

Las moléculas clase I y clase II son heterodímeros unidos a la membrana

Moléculas clase I del CMH

Las moléculas **clase I** están constituidas por una cadena polipeptídica pesada, de 44 kDa, unida de manera no covalente a un polipéptido más pequeño de 12 kDa denominado **β_2-microglobulina**. La parte más grande de la cadena pesada está organizada en tres dominios globulares (α_1, α_2 y α_3; fig. 4-11) que protruyen de la superficie celular; una porción hidrófoba fija la molécula en la membrana y una corta secuencia hidrófila transporta el extremo C-terminal al interior del citoplasma.

El análisis cristalográfico con rayos X de una molécula clase I de origen humano proporcionó un avance excitante en nuestro conocimiento acerca de la función del CMH. Tanto la β_2-microglobulina como la región α_3 se asemejan a los dominios de la Ig clásica en lo que respecta a sus patrones de plegamiento (véase fig. 4-11c). Sin embargo, los dominios α_1 y α_2, más distales a la membrana, forman dos α-hélices extendidas sobre un piso creado por hebras mantenidas juntas en una lámina plegada β donde el todo forma una innegable **ranura** (fig.4-11b y c). El aspecto de estos dominios es demasiado llamativo, nosotros dudamos de que el lector necesite la ayuda de analogías gastronómicas como "dos salchichas en un asador" para evitar cualquier amnesia de la estructura de la molécula clase I. Surgió otra característica curiosa. La ranura estaba ocupada por una molécula lineal, que ahora se conoce que es un péptido cocristalizable con la proteína clase I. La importancia de estos hallazgos singulares para el reconocimiento del antígeno por las células T será analizada en el capítulo siguiente.

Moléculas clase II del CMH

Las **moléculas clase II del CMH** también son glucoproteínas de transmembrana, en este caso constituidas por cadenas polipeptídicas α y β de 34kDa y 29kDa de peso molecular, respectivamente.

Existe una considerable homología en las secuencias con las moléculas de la clase I; los estudios estructurales demostraron que los dominios α_2 y β_2, los más cercanos a la membrana celular, adopten el plegamiento de Ig característico, mientras que los dominios α_1 y β_1 se asemejan a los α_1 y α_2 en cuanto a la formación de una ranura limitada por dos α-hélices y un piso de lámina plegada β (fig. 4- 11a).

La organización de los genes que codifican la cadena α de la molécula clase II del HLA-DR humano y las principales secuencias reguladoras que controlan su transcripción se muestran en la figura 4-12.

Diversos genes relacionados con la respuesta inmune contribuyen a la región clase III restante del CMH

Varios otros genes que se congregan dentro de la región CMH del cromosoma se agrupan bajo el título de clase III. En un sentido amplio, uno podría decir que muchos se relacionan, de manera directa o indirecta, con las funciones de la defensa inmune. Un cúmulo notable comprende cuatro genes que codifican componentes del complemento, dos de los cuales son para la fracción C4, isotipos C4A y C4B, y los otros dos para C2 y factor B. Las citocinas, el factor de necrosis tumoral (TNF, a veces denominado TNFα) y la linfotoxina (LTα y LTβ) son codificados por la clase III, como también los tres miembros de las proteínas de shock térmico de origen humano, de 70kDa. Como siempre, las cosas en realidad no encajan en las delicadas cajas pequeñas en las que nos gustaría colocarlas. Aunque fueran de cristal claro donde una región del CMH acaba y otra comienza (y no lo es), algunos genes localizados en la mitad de las regiones de clase I o II "clásicas" (véase fig. 4-13) debieran clasificarse de modo más correcto como parte de la población clase III. Por ejemplo, los genes *LMP* y *TAP*, que intervienen en el procesamiento intracelular y en el transporte de los péptidos de los epítopos, se encuentran en la región de la clase II (véase más adelante) pero no poseen la estructura clásica de esta clase ni están expresados en la superficie celular.

Hito 4-2. Complejo mayor de histocompatibilidad

Peter Gorer elaboró antisueros de conejo contra eritrocitos provenientes de una cepa pura de ratones (como resultado de > 20 apareamientos entre hermanos) y, por la cuidadosa absorción cruzada con glóbulos rojos de diferentes cepas, identificó el antígeno II específico de cepa, conocido en la actualidad como H-2 (cuadro H4-2.1).

A continuación, este autor demostró que el rechazo de un tumor albino (A) por ratones negros (C57) estaba íntimamente relacionado con la presencia del antígeno II (cuadro H4-2.2) y que el rechazo del tumor se asociaba con el desarrollo de anticuerpos contra este antígeno.

Con posterioridad, George Snell introdujo el término antígeno de **histocompatibilidad (H)** para describir los antígenos que provocan el rechazo de injerto y demostró que, de todos los antígenos H posibles, las diferencias en el locus H-2 (es decir antígeno II) provocó el rechazo de injerto más intenso observado entre diversas cepas de ratones. *Poco a poco,* los esmerados estudios fueron descubriendo de modo gradual una situación marcadamente complicada. Lejos de representar un solo locus génico, se demostró que el H-2 es un gran complejo de múltiples genes, muchos de los cuales eran muy polimórficos; de allí el término **complejo mayor de histocompatibilidad (CMH)**. Los componentes principales de los mapas genéticos actuales del HLA del ser humano y el H-2 murino del CMH se muestran en la figura H4-2.1 para dar al lector una idea global de la organización compleja de esta importante región (¡para los inmunólogos queremos decir!, es probable que todas las regiones altamente transcriptas de alguna manera sean importantes para el huésped).

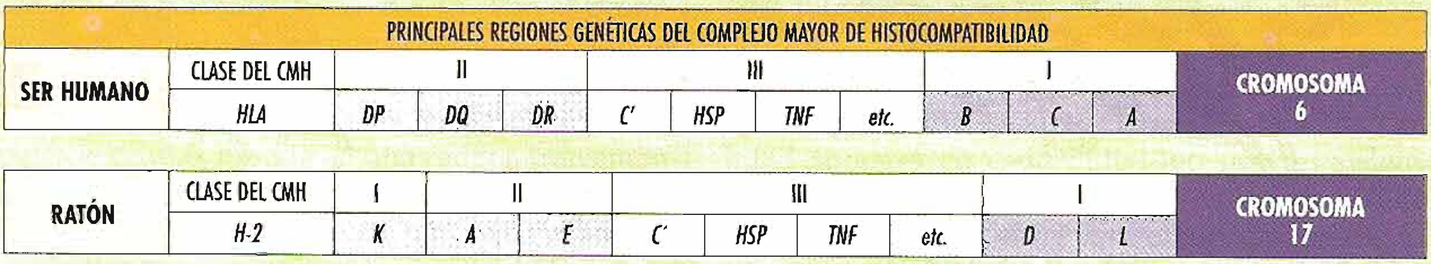
Cuadro H4-2.1. *Identificación del H-2 (antígeno II)*

Antisuero de conejo contra:	Antígenos detectados en glóbulos rojos de Albino		
	I	II	III
Albino (A)	+++	+++	++
Negro (C57)	++	−	++

Cuadro H4-2.2. *Relación de antígeno II al rechazo del tumor*

Fenotipo del antígeno II de la cepa receptora	Rechazo del inóculo del tumor (cepa A) por:			
	* Cepa pura		**(A × C57) F1 retrocruzado con C57	
	−	+	−	+
Ag II + ve (A)	39	0	17(19,3)	17(19,5)
Ag II − ve (C57)	0	45	0	44 (39)

* Un inóculo de tumor proveniente de una cepa A con el antígeno II es rechazado por el huésped C57 (+ = rechazo; - = aceptación).
** La descendencia de apareamiento A × C57, fue retrocruzado con el progenitor C57 y en la descendencia resultante se investigó el antígeno II (Ag II) y su capacidad de rechazar el tumor. Las cifras entre paréntesis = número esperado si el crecimiento del tumor es influenciado por dos genes dominantes, uno de los cuales determinan la presencia de antígeno II.



PRINCIPALES REGIONES GENÉTICAS DEL COMPLEJO MAYOR DE HISTOCOMPATIBILIDAD

SER HUMANO	CLASE DEL CMH	II			III				I			CROMOSOMA 6
	HLA	DP	DQ	DR	C′	HSP	TNF	etc.	B	C	A	

RATÓN	CLASE DEL CMH	I	II		III				I		CROMOSOMA 17
	H-2	K	A	E	C′	HSP	TNF	etc.	D	L	

Fig. H4-2.1. Principales regiones genéticas del complejo mayor de histocompatibilidad.

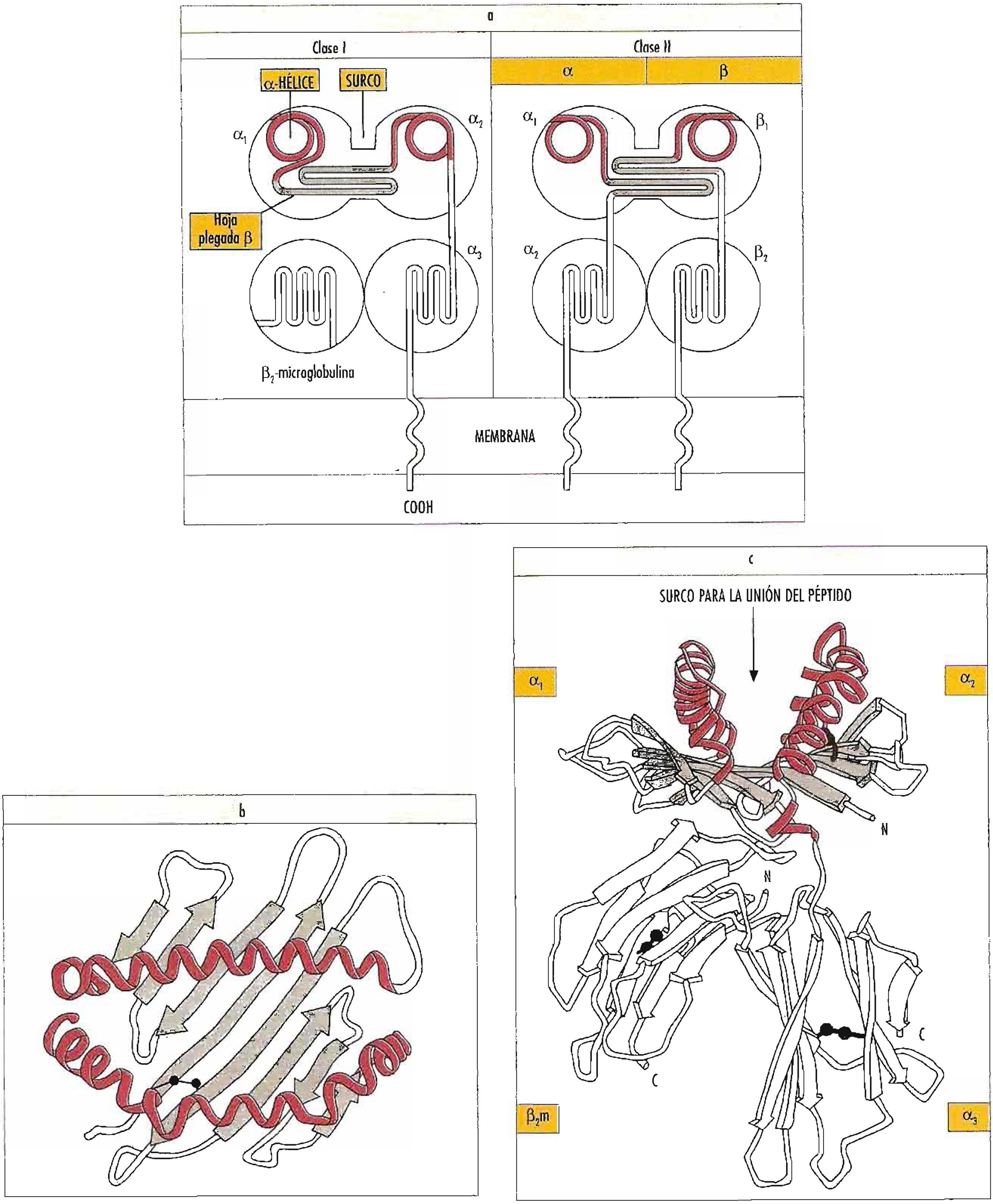

a
Clase I
Clase II
α
β
α-HÉLICE
SURCO
α_1
α_2
α_3
β_1
β_2
Hoja plegada β
β_2-microglobulina
MEMBRANA
COOH
b
c
SURCO PARA LA UNIÓN DEL PÉPTIDO
α_1
α_2
N
N
C
C
β_2m
α_3

Fig. 4-11. Moléculas clase I y clase II del CMH. a) Diagrama que muestra los dominios y los segmentos transmembrana; las hélices α y las láminas plegadas β se observan en la parte superior. **b)** Representación esquemática general de la superficie superior de una molécula clase I humana (HLA-A2) basada en la estructura cristalográfica con rayos X. Las hebras que forman la lámina plegada β se muestran como flechas grises gruesas en la dirección del amino al carboxilo; las α-hélices están representadas como cintas helicoidales rojas. Las superficies que se enfrentan hacia la parte interna de las dos hélices y la superficie superior de la lámina β forman un surco. Los dos círculos negros representan un puente disulfuro intracatenario. **c)** Vista lateral de la misma molécula, que muestra con claridad la anatomía del surco y el plegamiento típico tipo Ig de los dominios α_3 y β_2-microglobulina (cuatro hebras β antiparalelas en una cara y tres en la otra). (Reproducido de Bjorkman PJ, et al. *Nature* 1987; 329,506, con autorización.)

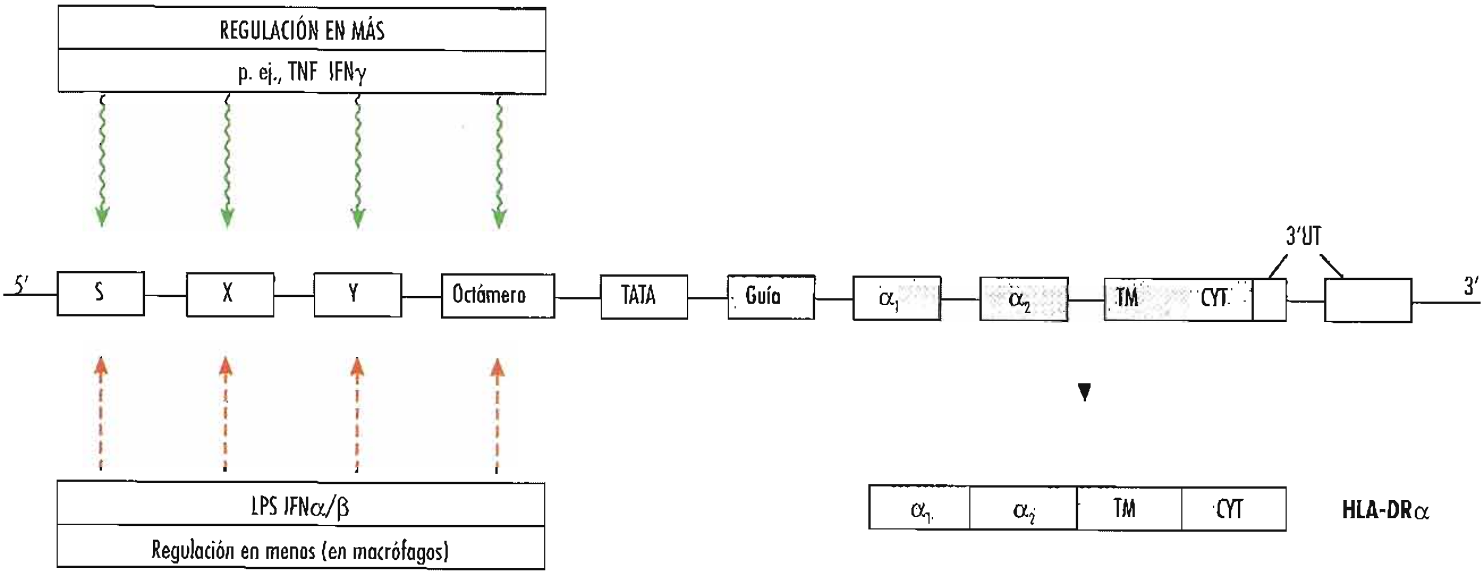


Fig. 4-12. Genes que codifican la cadena HLA-DRα humana (azul más oscuro) y sus elementos de control (secuencias reguladoras en azul claro y promotor del compartimiento TATA en amarillo). α1/α2 codifican los dos dominios extracelulares; TM y CYT codifican los segmentos transmembrana y citoplasmático, respectivamente. 3'UT representa la secuencia 3' no traducida. Los motivos octaméricos también se encuentran en casi todos los promotores del gen *V* de la cadena pesada y liviana de inmunoglobulina (véase fig. 3-6) y en los promotores de otros genes específicos de células B como *B29* y *CD20*.

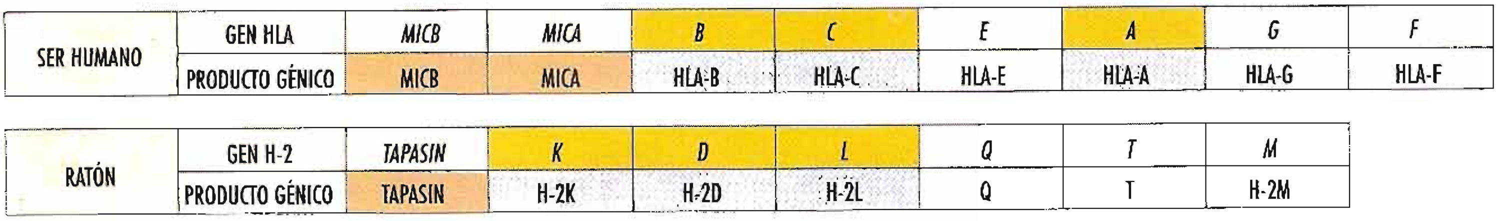
Mapa génico del CMH

La secuencia completa de un CMH humano fue publicada a fines del último milenio después de un esfuerzo gigantesco de grupos de investigación de Inglaterra, Francia, Japón y Estados Unidos. La secuencia completa, que representa un compuesto de haplotipos del CMH diferentes, comprende 224 locis génicos. De los 128 de estos genes que se predicen sean expresados, se estima que cerca del 40% posee funciones relacionadas con el sistema inmune. La región entre las clases II y I en el mapa humano contiene alrededor de 60 genes clase III. Una vista global de los cúmulos principales de genes clase I, II y III en el CMH del ratón y de los seres humanos puede obtenerse de figura H4-2.1 en el hito 4-2. Mapas más detallados de cada región se presentan en las figuras 4-13 a 4-15. Con el propósito de simplificar estos mapas génicos se omitieron varios seudogenes.

Se ha demostrado que la molécula clase I de la superficie celular, basada en una cadena transmembrana con tres dominios extracelulares asociados con β_2-microglobulina, es un modelo claramente ventajoso en el desarrollo de la evolución, como queda evidenciado por la diversidad de especies moleculares que utilizan esta estructura. Es útil subdividirlas primero en las **moléculas clase I clásicas** (a veces denominadas clase Ia), HLA-A, HLA-B y HLA-C en el ser humano y H-2K, H-2D y H-2L en el ratón. Fueron definidas por serología, mediante anticuerpos originados en individuos injertados por métodos desarrollados en los estudios pioneros realizados por Gorer (hito 4-2). Otras moléculas, a veces denominadas clase Ib, poseen estructuras relacionadas y son codificadas ya sea dentro del locus CMH propiamente dicho (moléculas **"no clásicas"** del CMH, p. ej., HLA-E, HLA-F y HLA-G, HFE, MICA y MICB en seres humanos, H-2T, H-2Q y H2-M murinos), o en otra parte del genoma (moléculas **"relacionadas con las cadena clase I"**, entre las que se incluye la familia CD1 y FcRn). Los genes no clásicos del CMH son mucho menos polimorfos que el CMH clásico, a menudo invariables y muchos son seudogenes.

Los genes del CMH despliegan un notable polimorfismo

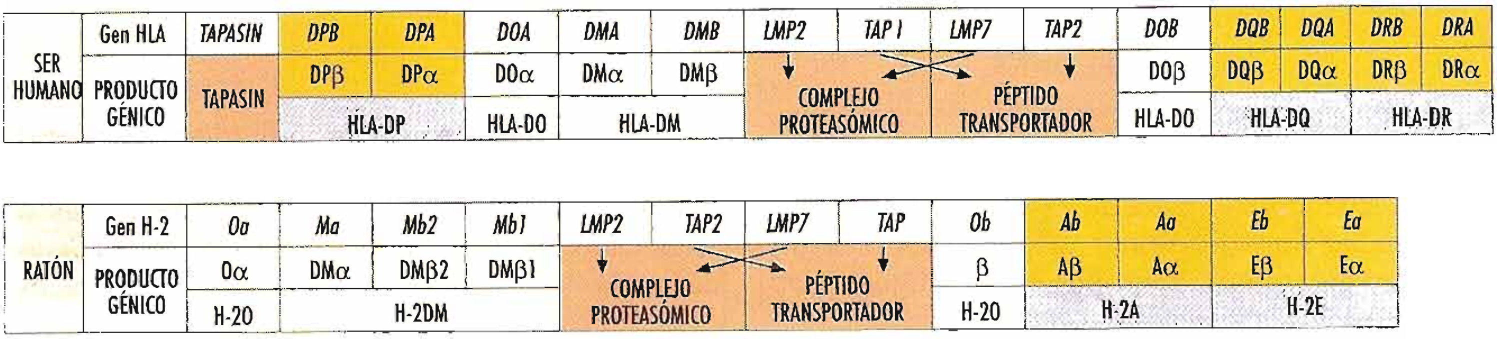
A diferencia de lo que ocurre con el sistema de la inmunoglobulina, en el cual hemos visto, la variabilidad se logra en cada individuo por un sistema **multigénico**, el CMH evolucionó en lo que se refiere a la variabilidad entre los individuos con un sistema altamente **polimorfo** (literalmente "de muchas formas") basado en **múltiples alelos** (es decir, genes alternativos en cada locus). En el genoma humano los genes de la clase I y clase II son los más polimorfos; en algunos de estos genes se identificaron más de 200 variantes alélicas. Las moléculas clase I HLA-A, HLA-B y HLA-C son altamente poli-



SER HUMANO	GEN HLA	*MICB*	*MICA*	*B*	*C*	*E*	*A*	*G*	*F*
	PRODUCTO GÉNICO	MICB	MICA	HLA-B	HLA-C	HLA-E	HLA-A	HLA-G	HLA-F

RATÓN	GEN H-2	*TAPASIN*	*K*	*D*	*L*	*Q*	*T*	*M*
	PRODUCTO GÉNICO	TAPASIN	H-2K	H-2D	H-2L	Q	T	H-2M

Fig. 4-13. Mapa de los genes clase I del CMH. Los genes clase I polimorfos clásicos, *HLA-A, HLA-B, HLA-C* en los seres humanos y *H-2K, H-2D, H-2L* en los ratones, están sombreados con color naranja y codifican cadenas peptídicas que, junto con la β_2-microglobulina, forman las moléculas de clase I completas identificadas originalmente en los estudios más tempranos como antígenos por los anticuerpos inducidos por ellos en los injertos en otro miembro de la misma especie. Nótese que sólo algunas cepas de ratones poseen un gen *H-2L*. Los genes expresados de modo más abundante son *HLA-A* y *HLA-B* en los seres humanos y *H-2K* y *H-2D* en el ratón. Los otros genes clase I ("clase Ib") se denominan "no clásicos" o "relacionados con la cadena clase I". Son oligomorfos más que polimorfos o a veces invariables y muchos son silenciosos, o seudogenes. En el ratón hay alrededor de 15 genes *Q* (denominados también *Qa*), 25 genes *T* (denominados también *TL* o *Tla*) y 10 genes *M*. MICA y MICB son ligandos para los receptores de las células NK. La tapasina está comprometida en el transporte de péptidos (véase pág. 104). El gen que codifica esta molécula está en el extremo centromérico de la región CMH y, por consiguiente, se muestra en este mapa génico con respecto al ratón, pero en la figura 4-14, se muestra el mapa génico de la clase II en lo que se refiere al ser humano (véase fig. H4-2.1 para comprender la razón).



SER HUMANO	Gen HLA	*TAPASIN*	*DPB*	*DPA*	*DOA*	*DMA*	*DMB*	*LMP2*	*TAP1*	*LMP7*	*TAP2*	*DOB*	*DQB*	*DQA*	*DRB*	*DRA*
	PRODUCTO GÉNICO	TAPASIN	DPβ	DPα	DOα	DMα	DMβ	↓			↓	DOβ	DQβ	DQα	DRβ	DRα
			HLA-DP		HLA-DO	HLA-DM		COMPLEJO PROTEASÓMICO		PÉPTIDO TRANSPORTADOR		HLA-DO	HLA-DQ		HLA-DR	

RATÓN	Gen H-2	*Oa*	*Ma*	*Mb2*	*Mb1*	*LMP2*	*TAP2*	*LMP7*	*TAP*	*Ob*	*Ab*	*Aa*	*Eb*	*Ea*
	PRODUCTO GÉNICO	Oα	DMα	DMβ2	DMβ1	↓			↓	β	Aβ	Aα	Eβ	Eα
		H-2O	H-2DM			COMPLEJO PROTEASÓMICO		PÉPTIDO TRANSPORTADOR		H-2O	H-2A		H-2E	

Fig. 4-14. Mapa de los genes clase II del CMH con los "clásicos" *HLA-DP, HLA-DQ, HLA-DR* en el genoma humano y *H-2A (I-A)* y *H-2E (I-E)* sombreados de color más oscuro. Ambas cadenas α y β de heterodímeros de clase II son transcriptas a partir de genes ubicados de modo muy próximo. Por lo común existen dos genes *DRB* expresados, *DRB1* y uno de *DRB3, DRB4* o *DRB5*. Una situación similar de una única cadena α apareada con diferentes cadenas β se encuentra en la molécula I-E del ratón. Los genes *LMP2* y *LMP7* codifican parte del complejo proteosómico, el cual cliva las proteínas citosólicas en péptidos más pequeños, los que son transportados por los productos del gen *TAP* al interior del retículo endoplasmático. *HLA-DAM* y *HLA-DMB* (en el ratón *H-2DMa, H-2DMb1* y *H-2DMb2*) codifican el heterodímero DM αβ, el cual elimina la cadena invariable asociada a la clase II (CLIP) de las moléculas clase II clásicas para permitir la unión de los péptidos de alta afinidad. Las moléculas H-2DM del ratón a menudo se denominan H-2Ml y H-2M2, aunque ésta es una designación que se presta a una horrible confusión porque el término *H-2M* también se utiliza para un conjunto completamente diferente de genes distales a la región *H-2T* y codifican a los miembros de la familia de la clase Ib (véase fig. 4-13). Los genes *HLA-DOA* (denominados en forma alternativa *HLA-DNA*) y *HLA-DOB* (*H-2Oa* y *H-2Ob* en el ratón) también codifican un heterodímero αβ que puede intervenir en la selección o el intercambio del péptido con las moléculas clase II clásicas.

morfas, lo mismo que las cadenas β de la clase II (en orden decreciente con el máximo para HLA-DRβ, luego HLA-DPβ y, en tercer lugar, HLA-DQβ) y, si bien en menor grado que las cadenas β, las cadenas α de HLA-DP y HLA-DQ. HLA-DRα y β_2-microglobulina son invariables en lo que respecta a la estructura. Los cambios de aminoácidos responsables de este polimorfismo están restringidos a los dominios α_1 y α_2 de la clase I y a los dominios α_1 y β_1 de clase II. Es de enorme importancia que se produzcan sobre todo en el piso de la lámina plegada β y en las superficies internas de las α-hélices que limita la cavidad central (fig. 4-11a) como también en las superficies superiores de las hélices.

La región CMH representa una mancha caliente (*hotspot*) sobresaliente con tasas de mutación de dos órdenes de magnitud superior que la de los loci que no pertenecen al CMH. Estas formas alélicas múlti-

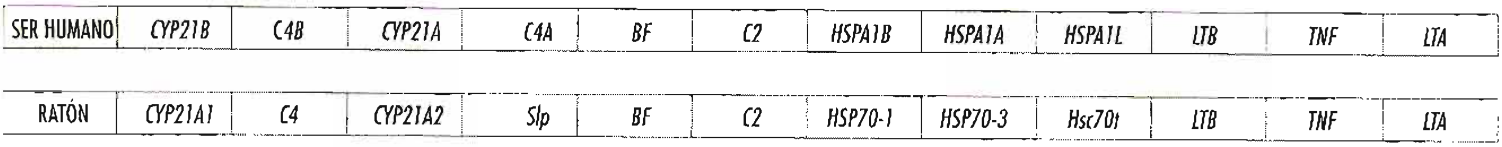


Fig. 4-15. Mapa de los genes clase III del CMH. Esta región es una especie de "bolsa de gatos". Aparte de los productos inmunológicamente "respetables", como C2, C4, factor B (codificado por el gen *BF*), factor de necrosis tumoral (*TNF*), linfotoxina α y linfotoxina β (codificadas por *LTA* y *LTB*, respectivamente) y tres proteínas de shock térmico de 70kDa (los genes *HSPA1A*, *HSPA1B* y *HSPA1L* en los seres humanos, *HSP70-1*, *HSP70-3* y los genes de *Hsc70t* en los ratones), genes no mostrados en esta figura pero no obstante presentes en este locus incluyen los que codifican la valil-tRNA sintetasa (*G7a*); NOTCH4, que tiene varias actividades reguladoras, y tenascina, una proteína de matriz extracelular. De hecho muchos genes pueden haber sido llevados a esta localización durante el largo pasaje de la evolución sin que necesariamente tengan que actuar en acuerdo con sus vecinos para desarrollar alguna función defensiva integrada. Las 21-hidroxilasas (21OHA y B, codificadas por *CYP21A* y *CYP21B*, respectivamente) median en la hidroxilación de esteroides como la cortisona. *Slp* (proteína limitada al sexo) codifica un alelo murino de C4, expresado bajo la influencia de la testosterona.

ples pueden generarse por una diversidad de mecanismos: mutaciones puntuales, recombinación, entrecruzamiento homólogo pero desigual y **conversión génica**.

El grado de homología de secuencia y una ocurrencia aumentada del motivo dinucleótido 5′-citosina-guanina-3′ (para producir las que se denominan islas CpG) parecen ser importantes para la conversión génica; se ha sugerido que esto puede involucrar una actividad cortante del DNA la cual se dirige a las secuencias del DNA con alto contenido en CpG. Los genes del CMH que carecen de estas secuencias, por ejemplo H-2Ea^d y HLA- DRA, no parecen sufrir conversión génica, mientras que aquellos que poseen las islas CpG actúan ya sea como dadores (p. ej., H-2Eb^b, H-2Q2^k, H-2Q10^b), aceptores (p. ej., H-2A^b) o ambas cosas (p. ej., H-2K^k, HLA-DQB1). El gran número de seudogenes dentro del CMH puede representar una acumulación de reservas de información genética para la generación de diversidad polimórfica en las moléculas clase I y clase II "funcionantes".

Nomenclatura

Dado que gran parte del trabajo experimental relacionado con el CMH se basa en experimentos realizados en nuestro pequeño amigo del laboratorio, el ratón, puede ser útil explicar la nomenclatura utilizada para describir los genes alélicos y sus productos. Si alguien le dice en un lenguaje poco conocido "estamos teniendo elecciones libres", usted no entiende, no porque la idea sea complicada sino porque usted no comprende el idioma. Es similar a lo que ocurre con las abreviaturas utilizadas para describir el sistema H-2, que asusta de manera innecesaria al no iniciado en el problema. Con el objeto de identificar y comparar los genes alélicos dentro del complejo H-2 en diferentes cepas, es habitual comenzar con ciertas cepas puras endocriadas homocigotas, obtenidas por apareamientos sucesivos entre hermanos, para proporcionar los prototipos. La colección de genes en el complejo H-2 se denomina **haplotipo** y al haplotipo de cada cepa endocriada prototipo se le asigna un superíndice dado. Por ejemplo, el haplotipo de la cepa DBA se designa *H-2*^{d} y los genes que constituyen el complejo son, por consiguiente, *H-2K*^{d}, *H-2Aa*^{d}, *H-2Ab*^{d}, *H-2D*^{d} y así sucesivamente; sus productos serán H-2K^d, H-2A^d y H-2D^d, etc. (fig. 4-16). Cuando se producen cepas nuevas a partir de éstas, por recombinación genética durante la cría, se les asignan nuevos haplotipos, pero los genes individuales se designan por el haplotipo de la cepa prototipo de la que provienen. Así, la cepa A/J producida por entrecruzamiento genético durante la cruza entre ratones F1 (*H-2*^{k} × *H-2*^{d}) (fig. 4-17) se asigna de manera arbitraria al haplotipo H-2^a, pero el cuadro 4-2 muestra que los genes individuales en el complejo se identifican por el símbolo haplotipo de los progenitores originales.

Herencia del CMH

Los ratones de cepas puras provenientes de apareamientos prolongados entre hermanos son homocigotos para cada par de cromosomas homólogos. Así, en el contexto presente, el haplotipo del CMH derivado de la madre será idéntico al del padre; los animales de la cepa C57BL, por ejemplo, poseerán dos cromosomas con el aplotipo *H-2*^{b} (véase cuadro 4-2).

Analicemos cómo se comporta el CMH cuando cruzamos dos cepas puras de haplotipos *H-2k* y *H-2*^{d}, respectivamente. Encontramos que los linfocitos de la descendencia (la generación F1) en su

Cepa	Haplotipo	Designación del CMH	I	II				III		I	
C57BL	*b*	*H-2*^{b}	*K*^{b}	*Ab*^{b}	*Aa*^{b}	*Eb*^{b}	*Ea*^{b}	*C4*^{b}	*etc*	*D*^{b}	*etc*
CBA	*k*	*H-2*^{k}	*K*^{k}	*Ab*^{k}	*Aa*^{b}	*Eb*^{k}	*Ea*^{k}	*C4*^{k}	*etc*	*D*^{k}	*etc*

Fig. 4-16. Cómo funciona la definición del haplotipo H-2. A la cepa pura de ratones homocigóticos para toda la región *H-2* por apareamiento prolongado entre hermanos al menos durante 20 generaciones se le asigna un **haplotipo** designado por un supraíndice. Así al conjunto particular de alelos que aparece en la cepa denominada C57BL se le asigna el haplotipo *H-2*^{b} y la secuencia de nucleótido particular de cada alelo en su CMH es denominada **gen**^{b}, por ejemplo *H-2K*^{b}, etc. Es sin duda más conveniente describir un alelo dado por el haplotipo que develar su secuencia de nucleótidos entera, y es más fácil seguir las reacciones de células de *H-2* conocidas cuando se utiliza la terminología del haplotipo; véase, por ejemplo, la interpretación del experimento en la figura 4-17.

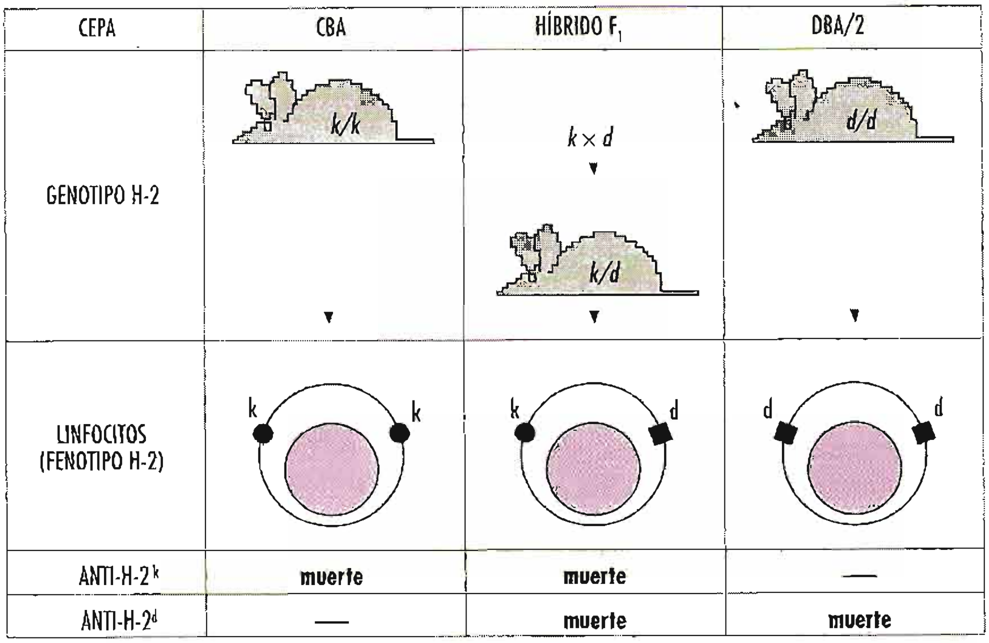


Fig. 4-17. Herencia y expresión codominante de genes del CMH. Cada animal de una cepa progenitora homocigótica (pura) tiene dos cromosomas idénticos que poseen un haplotipo *H-2*, uno paterno y otro materno. Así, en el ejemplo presente designamos una cepa que es *H-2*^{k} como *k/k*. La primera generación familiar (F1) obtenida por cruza de las cepas puras progenitoras CBA *(H-2k)* y DBA/2 *(H-2*^{d}*)* tiene el genotipo *H-2 k/d*. Dado que el 100% de los linfocitos es destruido en presencia de complemento por anticuerpos anti H-2^k o H-2^d (producidos por inoculación de linfocitos H-2^k en un animal H-2^d, y viceversa), las moléculas de CMH codificadas por ambos genes progenitores deben estar expresadas en cada linfocito. Lo mismo es válido para otros tejidos del organismo.

Cuadro 4-2. *Haplotipos del complejo H-2 de algunas cepas de ratones utilizados con más frecuencia y recombinantes derivados de ellos. A/J se formó por entrecruzamientos* (k × d) *de ratones con recombinación que se produce entre las regiones E (clase II) y S (clase*

CEPA	HAPLOTIPO	ORIGEN DE REGIONES INDIVIDUALES				
		K	A	E	S	D
C57BL	*b*	*b*	*b*	*b*	*b*	*b*
CBA	*k*	*k*	*k*	*k*	*k*	*k*
DBA/2	*d*	*d*	*d*	*d*	*d*	*d*
A/J	*a*	*k*	*k*	*k**	*d*	*d*
B. 10A(4R)	*h4*	*k*	*k*	*b*	*b*	*b*

totalidad presentan *ambas* moléculas H-2^k y H-2^d en su superficie, o sea que hay una **expresión codominante** (fig. 4-17). Si continuamos y cruzamos la generación F1 entre sí, la progenie presenta los genotipos *k*, *k/d* y *d* en las proporciones esperadas si el **haplotipo se segrega como un rasgo mendeliano único**. Esto sucede debido a que el complejo H-2 abarca 0,5 centimorgans, lo que equivale a una frecuencia de recombinación entre los extremos *K* y *D* del 0,5%, y el haplotipo tiende a heredarse *en bloque*. Sólo las relativamente poco frecuentes recombinaciones causadas por acontecimientos de entrecruzamiento meiótico, como el descrito antes para la cepa A/J, revelan la complejidad del sistema.

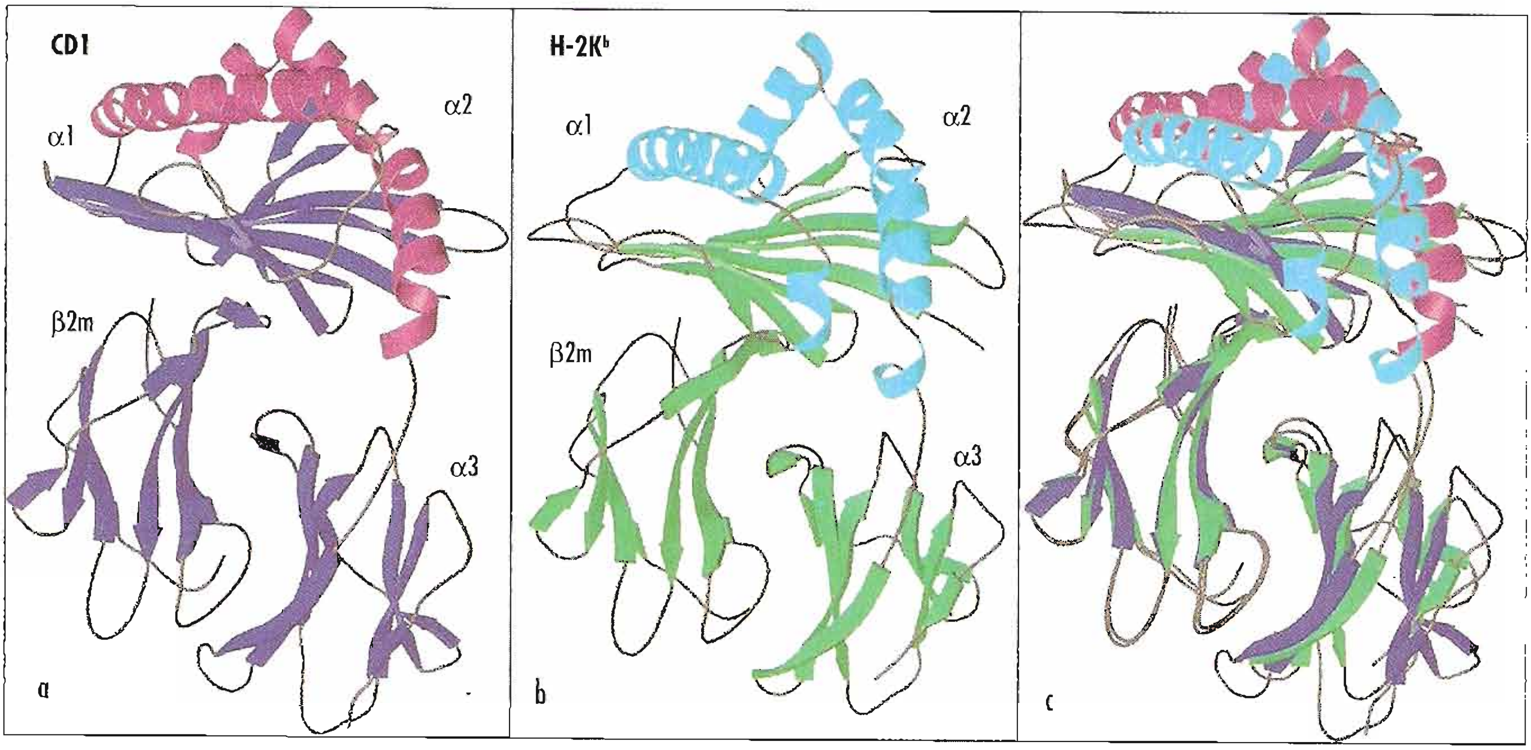


Fig. 4-18. Comparación de las estructuras cristal de CD1 y clase 1 del CMH. a) Diagrama de la cinta del CD1d1 del ratón (rojo, α-hélices; azul, β-hebras). b) Diagrama de la cinta de la molécula clase I del CMH del ratón H-2Kᵇ (celeste, α-hélices; verde, β-hebras). c) La superposición que utiliza alineación de β_2-microglobulina resalta algunas de las diferencias entre CD1d1 y H-2Kᵇ. Nótese en particular el cambio de las α-hélices. Esto produce una ranura más profunda y más voluminosa en CD1d1, más estrecha en su entrada que H-2Kᵇ. (Reproducción con autorización de Porcelli S.A. et al. *Immunology Today* 1998; 19,362.)

Distribución tisular de las moléculas del CMH

En esencia, todas las células nucleadas poseen moléculas clase I clásicas, los cuales expresan con abundancia en las células linfoides y mieloides, menos en el hígado, el pulmón y el riñón, y sólo escasamente en el cerebro y el músculo esquelético. En los seres humanos la superficie del citotrofoblasto extravellositario placentario carece de HLA-A y HLA-B, si bien en la actualidad hay alguna evidencia de que puede expresar HLA-C. Lo que sí está bien establecido es que este citotrofoblasto extravellositario y otros tejidos placentarios expresan HLA-G, una molécula que por lo general carece de alodeterminantes y que no aparece en la mayoría de las otras células somáticas, salvo en la médula y en el epitelio subcapsular del timo, y en los monocitos de sangre luego de la activación con interferón γ. El papel del HLA-G en la placenta no es claro; puede funcionar como un reemplazo para las moléculas clase I clásicas que poseen alodeterminantes y desempeñar un papel en el cambio de respuestas Th1 potencialmente dañinas hacia una respuesta del tipo Th2. Por otro lado, las moléculas clase II están altamente restringidas en su expresión y están presentes sólo en las células B, células dendríticas, macrófagos y epitelio del timo.

Sin embargo, cuando células del endotelio capilar y muchas células epiteliales, en tejidos distintos del timo, son activadas por agentes como el interferón γ expresan moléculas clase II en su superficie y niveles más altos de clase I.

Función del CMH

Si bien fueron descubiertas a través de las reacciones producidas por los trasplantes, como veremos en los capítulos posteriores, las moléculas de CMH actúan como marcadores de la superficie celular que permiten a las células infectadas enviar señales a las células T citotóxicas y helper. No hay dudas de que este papel en la respuesta inmune es de importancia extrema y, en este aspecto, la **región del CMH con alto polimorfismo** representa una respuesta de la especie para **aumentar al máximo la protección contra diversos microorganismos**. Un ejemplo claro es la selección del locus HLA-B inducido por el paludismo como resultado de cepas de *Plasmodium falciparum*, en el este de África, asociada con HLA DRB1*0101, mientras que HLA DRB1*1302 confiere resistencia a las cepas del parásito del oeste de África.

Moléculas no clásicas y moléculas relacionadas con la cadena clase I del CMH

Estas moléculas incluyen la familia **CD1** que utiliza β_2-microglobulina y posee una estructura global similar a las moléculas clase I clásicas (fig. 4-18). Sin embargo, están codificadas por un conjunto de genes ubicados en un cromosoma diferente del CMH: en el cromosoma 1 en los seres humanos y en el cromosoma 3 en el ratón. Como verdadera contraparte del CMH, el CD1 participa en la presentación de antígenos a las células T, pero la ranura de unión al antígeno está en alguna magnitud recubierta, contiene sobre todo aminoácidos hidrófobos y sólo es accesible a través de una entrada estrecha. En lugar de los péptidos de unión a los antígenos, las moléculas CD1 por lo general presentan lípidos y glucolípidos. Por lo menos se encuentran cuatro moléculas de CD1 diferentes expresadas en las células humanas; CD1a, b y c están presentes en timocitos corticales, células dendríticas y una subpoblación de células de B, mientras CD1d se expresa en el epitelio intestinal, los hepatocitos, y en todas las células linfoides y mieloides. Los ratones sólo parecen expresar dos moléculas diferentes de CD1, ambas similares, en lo que se refiere a estructura y distribución en los tejidos, al CD1d humano; y se denominan CD1d1 y CD1d2 (o CD1.1 y CD1.2).

Los genes en el CMH propiamente dicho que codifican las moléculas no clásicas del CMH incluyen los loci H-2T, H-2Q y H-2M en ratones, cada uno de los cuales codifica varias moléculas diferentes. Por ejemplo, las moléculas T22 y T10 son inducidas por la activación celular y reconocidas directamente por el TCR$\gamma\delta$ sin un requerimiento para el antígeno, lo que tal vez sugiere que están involucradas en la estimulación inmunorreguladora de las células T $\gamma\delta$. Otras moléculas clase I no clásicas unen péptidos, como H-2M3 que presenta péptidos *N*-formilados producidos ya sea en las mitocondrias o por las bacterias.

En los seres humanos el HLA-E se une a un péptido de nueve aminoácidos, proveniente de la secuencia señal de las moléculas HLA-A, HLA-B, HLA-C y HLA-G, y es reconocido por los receptores CD94/NKG2 ubicados en las células NK y células T citotóxicas, así como por el TCR $\alpha\beta$ en algunas células T citotóxicas. El HLA-E está regulado hacia arriba cuando otros alelos HLA proporcionan los péptidos guía apropiados, lo que quizá permite a las células NK supervisar la expresión de moléculas clase I polimorfas que utilizan un único receptor. El homólogo murino, Qa-1, desempeña una función similar.

Las moléculas MICA y MICB (relacionadas con la cadena clase I del CMH) tienen la misma estructura del dominio que la molécula clase I clásica y despliega un relativamente alto nivel de polimorfismo. Están presentes en las células epiteliales, sobre todo en el tracto gastrointestinal y en la corteza del timo, y son reconocidos por la molécula de activación NKG2D. Un posible papel de esta interacción se desempeña en el desarrollo de respuestas NK y antitumoral de células T.

La función del HLA-F no es clara. Por el contrario, si bien el HLA-G muestra un polimorfismo sumamente limitado, se sabe que se une a una diversidad de péptidos con un motivo de unión definido y hay evidencias de células T restringidas por HLA-G.

El HFE, antes denominado HLA-H, posee una ranura sumamente estrecha que es incapaz de unirse a los péptidos y tal vez no desempeñe ningún papel en la defensa inmune. Sin embargo, se une al receptor de transferrina y parece estar involucrado en la captación de hierro. Una mutación puntual (C282Y) en el HFE se encuentra en el 70%-90% de los pacientes con hemocromatosis hereditaria.

RESUMEN

Receptor de superficie de la célula B para el antígeno

- La célula B inserta su producto génico Ig, que contiene un segmento transmembrana que actúa como un receptor específico para el antígeno.
- La Ig de superficie forma un complejo con las proteínas de membrana Ig-α e Ig-β que sufren una fosforilación con la activación celular y transducen señales recibidas a través del receptor Ig para el antígeno.

Receptor de superficie de la célula T para el antígeno

- El receptor para el antígeno es un dímero transmembrana, cada cadena está constituida por dos dominios tipo Ig.
- Los dominios externos presentan una estructura variable, los internos son constantes; bastante parecido a un Fab unido a la membrana.
- Se requieren ambas cadenas para el reconocimiento del antígeno.

- La mayoría de las células T expresa un receptor (TCR) con cadenas α y β (TCR2). Un linaje separado (TCR1) que posee receptores γδ se transcribe con firmeza en la ontogenia tímica, pero se asocia sobre todo con los tejidos epiteliales en el adulto.
- La codificación del TCR es similar a la de las inmunoglobulinas. La región variable que codifica la secuencia en la diferenciación de células T está formada por la translocación al azar de cúmulos de los segmentos *V*, *D* (para las cadenas β y δ) y *J* para dar una secuencia recombinante única *V(D)J* para cada cadena.
- A semejanza de lo que ocurre con las cadenas de Ig, cada región variable posee tres secuencias hipervariables que intervienen en el reconocimiento del antígeno.
- El complejo CD3, compuesto por cadenas γ, δ, ε y dímeros ya sea ζ_2, ζη o η_2 unidos de manera no covalente, forma una parte íntima del receptor y desempeña un papel en la transducción de la señal luego de la unión del ligando a TCR.

Generación de diversidad del anticuerpo para el reconocimiento del antígeno

- Las cadenas liviana y pesada de la Ig así como las cadenas α y β del TCR por lo general están representadas en la línea germinal por 30 a 75 genes de la región variable, 2 a 25 D minigenes del segmento *D* (Ig pesada y TCR β y δ solo) y 4 a 60 segmentos *J* cortos.
- Las cadenas γ y δ de TCR son codificadas por una cantidad mucho menor de genes.
- La recombinación al azar de cualquier gen individual *V*, *D* y *J* proveniente de cada cúmulo génico genera alrededor de $7{,}5\times10^3$ secuencias *VDJ* de cadena pesada de Ig, 200 cadenas livianas, $4{,}5 \times 10^3$ TCR α, 1×10^3 TCR β, pero sólo 60 TCR γ y 72 TCR δ.
- La combinación intercatenaria al azar produce cerca de $1{,}5 \times 10^6$ receptores de Ig, $4{,}5 \times 10^6$ receptores TCR αβ y $4{,}3 \times 10^3$ receptores TCRγδ.
- Se introduce una diversidad adicional en las uniones entre los segmentos *V*, *D* y *J* por combinación variable, a medida que se empalman por medio de las enzimas recombinasa y por la inserción al azar en la región N de secuencias de nucleótidos que no actúan como molde. Estos mecanismos pueden ser de particular importancia en el aumento de especificidades que pueden extraerse de la relativamente pequeña mezcla de γδ.
- Los receptores inútiles o autorreactivos se pueden reemplazar mediante la corrección del receptor.
- Además, después de una respuesta primaria, las células B, pero no las células T, sufren una tasa alta de mutación somática que afecta las regiones *V*.

Receptores NK

- Las células NK poseen varios receptores con dominios tipo Ig y otros con dominios de lectina tipo C. Los miembros de ambos tipos de familia de receptores pueden funcionar como receptores inhibidores o activadores para determinar si destruye la célula blanco.

CMH

- Cada especie de vertebrados posee un CMH identificado originalmente mediante su capacidad de generar un muy poderoso rechazo de transplante.
- Cada uno contiene tres clases de genes. La clase I codifica polipéptidos de transmembrana de 44 kDa, asociados en la superficie celular con β_2-microglobulina. Las moléculas clase II son heterodímeros de transmembrana. Los productos clase III son heterogéneos, pero incluyen componentes del complemento unidos a la formación de C3 convertasas, proteínas del shock térmico y factores de necrosis tumoral.
- Los genes despliegan un notable polimorfismo. Un cúmulo génico dado del CMH se denomina "haplotipo" y por lo general se hereda *en bloque* como un rasgo mendeliano único, aunque sus genes constitutivos se han revelado por acontecimientos de recombinación cruzada.
- Las moléculas clase I están presentes en casi todas las células del organismo y hacen señales a las células T citotóxicas.
- Las moléculas clase II están particularmente asociadas con las células B, células dendríticas y macrófagos, pero pueden ser inducidas por el interferón γ en las células endoteliales de los capilares y células epiteliales. Ellas envían señales a las células T para que colaboren con las células B y los macrófagos.
- Los dos dominios distales a la membrana celular forman una cavidad de unión al péptido, limitada por dos α-hélices paralelas, que se asienta en un piso de lámina plegada β; las paredes y

el piso de la cavidad y la superficie superior de las hélices son los sitios de máximas sustituciones polimorfas de aminoácidos.

- Los genes silenciosos clase I pueden aumentar el polimorfismo por mecanismos de conversión génica.
- Las moléculas no clásicas del CMH y las moléculas tipo CMH tienen varias funciones incluso CD1, que presenta antígenos lipídicos y glucolipídicos a las células T, y HLA-E, que presenta secuencias de péptidos de señal a partir de las moléculas clase I al receptor CD94/NKG2 de las células NK.

Véanse preguntas de opciones múltiples en el sitio web correspondiente (www.roitt.com).

LECTURAS ADICIONALES

Braud V.M., Allan D.S.J. & McMichael A.J. (1999) Functions of nonclassical MHC and non-MHC-encoded class I molecules. *Current Opinion in Immunology* 11,100.

Clark D.A. (1999) Human leukocyte antigen-G: new roles for old? *American Journal of Reproductive Immunology* 41,117.

Fernandez-Miguel G. *et al.* (1999) Multivalent structure of an αβ T cell receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 96,1547.

Grawunder U. & Harfst E. (2001) How to make ends meet in V(D)J recombination. *Current Opinion in Immunology* 13,186.

Kelsoe G. (1999) V(D)J hypermutation and receptor revision: coloring outside the lines. *Current Opinion in Immunology* 11,70.

Lanier L.L. (ed.) (2000) Human NK cell receptors. *Seminars in Immunology* 12 (2).

Lanier L.L. (2001) On guard—activating NK cell receptors. *Nature Immunology* 2, 23.

Mak T.W. (1998) T-cell receptor, αβ. In Delves P.J. & Roitt I.M. (eds) *Encyclopedia of Immunology*, 2nd edn, p .2264. Academic Press. (See also article by Hayday A. & Pao W. on the γδ TCR; *ibid.* ,p. 2268.)

Matsuda F. *et al.* (1999) The complete nucleotide sequence of the human immunoglobulin heavy chain variable region locus. *Journal of Experimental Medicine* 188, 2151.

MHC Sequencing Consortium (1999) Complete sequence and gene map of a human major histocompatibility complex. *Nature* 401, 921.

Nemazee D. (2000) Receptor editing in B cells. *Advances in Immunology* 74, 89.

Parham P. (ed.) (1999) Genomic organisation of the MHC: structure, origin and function. *Immunological Reviews* 167.

Porcelli S.A. & Modlin R.L. (1999) The CD1 system: antigenpresenting molecules for T cell recognition of lipids and glycolipids. *Annual Review of Immunology* 17,297.

Raulet D.H., Vance R.E. & McMahon C.W. (2001) Regulation of the natural killer cell receptor repertoire. *Annual Review of Immunology* 19, 91.

de Wildt R.M.T. et al. (1999) Somatic insertions and deletions shape the human antibody repertoire. *Journal of Molecular Biology* 294, 701.

CAPÍTULO 5

Interacción primaria con el antígeno

www.el12cirujano.blogspot.com/

Introducción, 89
Naturaleza de los epítopos de células B, 90
  De epítopos y determinantes antigénicos, 90
  Identificación de los epítopos de las células B, 90
Antígenos y anticuerpos interactúan por complementariedad espacial y no por uniones covalentes, 92
  La variación en la estructura del hapteno muestra la importancia de la forma, 92
  Puede demostrarse la complementariedad espacial del epítopo y el parátopo, 93
  Las uniones antígeno-anticuerpo son fácilmente reversibles, 94
Las fuerzas de unión del antígeno al anticuerpo aumentan a medida que las distancias intermoleculares disminuyen, 94
La afinidad mide la fuerza de unión del antígeno y del anticuerpo, 96
  Avidez del antisuero por el antígeno; efecto de bonificación de la multivalencia, 98
La especificidad del reconocimiento del antígeno por el anticuerpo no es absoluta, 100
Lo que percibe la célula T, 100
  La restricción del haplotipo revela la necesidad de la participación del CMH, 100
  Las células T reconocen una secuencia peptídica lineal del antígeno, 101
Procesamiento del antígeno intracelular para la presentación por la clase I del CMH, 103
Procesamiento del antígeno para la presentación por la clase II del CMH que sigue una vía diferente, 105
Naturaleza del péptido de la "ranura", 107
  Unión a la clase I del CMH, 108
  Unión a la clase II del CMH, 108
El receptor αβ de la célula T forma un complejo ternario con el CMH y el péptido antigénico, 110
  Topología del complejo ternario, 110
Células T con una perspectiva diferente, 111
  Las moléculas clase I no clásicas también pueden presentar al antígeno, 111
  Algunas células T poseen marcadores NK, 113
  Los TCR γδ poseen algunas características de los anticuerpos, 113
Los superantígenos estimulan familias enteras de receptores del linfocito, 113
  Las toxinas bacterianas representan un grupo importante de superantígenos para las células T, 114
  Los virus de tumores mamarios endógenos del ratón (MMTV) actúan como superantígenos, 114
  Los microbios también pueden proporcionar superantígenos para las células B, 115
El reconocimiento de formas diferentes del antígeno por las células B y T es ventajoso para el huésped, 115
Resumen, 116
Lecturas adicionales, 118

INTRODUCCIÓN

Un hombre no puede ser un marido sin una esposa y una molécula no puede ser un antígeno sin un correspondiente antisuero o anticuerpo o receptor de célula T. El término **antígeno** se utiliza en dos sentidos, el primero para describir una molécula que *gen*era una respuesta inmune (también denominado **inmunógeno**), y el segundo, una molécula que reacciona con los anticuerpos o las células T programadas, independiente de su capacidad de generarlos. Si esta última situación parece algo confusa, un ejemplo puede ayudar con su comprensión. Un ratón

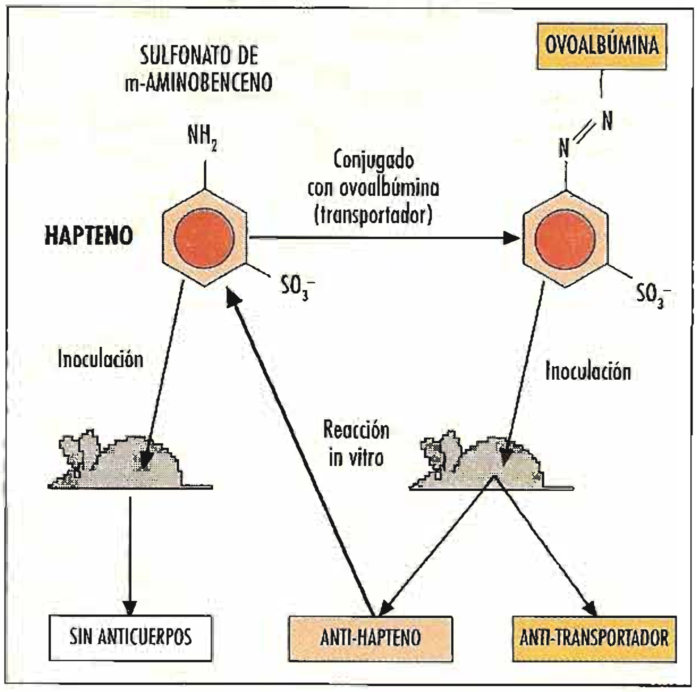


Fig. 5-1. Un hapteno por sí solo no inducirá anticuerpos. Sin embargo, reaccionará in vitro con anticuerpos formados contra un conjugado con transportador inmunogénico.

inoculado con sus propios glóbulos rojos, de modo no demasiado sorprendente, no elaborará anticuerpos; si ahora se administran eritrocitos de rata, se forman anticuerpos contra ambos glóbulos rojos, de rata y *ratón*, y estos últimos se unen a las propias células del animal in vivo, es decir, los glóbulos rojos del ratón actúan como antígeno en unión con los anticuerpos, aun cuando son incapaces de evocar su formación. De manera similar, los **haptenos**, que son pequeñas agrupaciones químicas bien definidas como dinitrofenol (DNP; véase pág. 41) o sulfonato de *m*-aminobenceno, no son inmunogénicos por sí solos, pero reaccionarán con anticuerpos preformados inducidos por la inoculación del hapteno unido a una molécula transportadora que es por sí sola un inmunógeno (fig. 5-1).

Las partes de las regiones hipervariables del anticuerpo que contactan con el antígeno se denominan parátopos y la parte del antígeno que está en contacto con el **parátopo** se designa **epítopo**. Para dar alguna idea de tamaño, si el antígeno es un péptido o hidrato de carbono lineal, el sitio de combinación por lo común puede acomodar hasta cinco o seis residuos de aminoácidos o unidades de hexosa. En el caso de una proteína globular, en los casos típicos 14-21 residuos de aminoácido están en contacto en ambos, el anticuerpo y el antígeno (véase fig. 5-5).

NATURALEZA DE LOS EPÍTOPOS DE CÉLULAS B

De epítopos y determinantes antigénicos

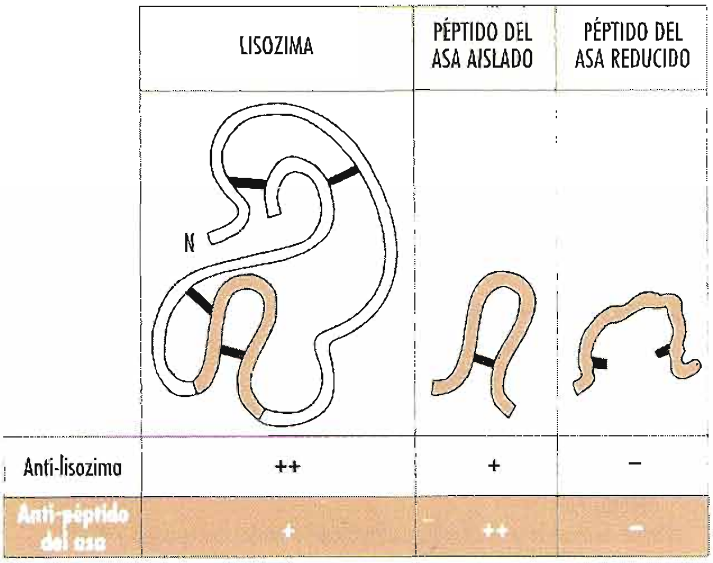


Fig. 5-2. **Especificidad y configuración tridimensional en una proteína globular, lisozima.** Los anticuerpos contra la molécula entera y el péptido del asa aislado no reaccionan con el péptido después de la reducción de su puente disulfuro, lo que muestra que el péptido lineal reducido perdió la configuración antigénica que tenía cuando mantenía el asa a pesar de que la secuencia del aminoácido se mantiene inalterada. (De Maron E, Shiowa C, Arnon R, Sela M. *Biochemistry* 1971; 10:763.)

Los anticuerpos formados como respuesta a la inmunización con una proteína globular nativa (a diferencia de una proteína fibrilar) tienden a no reaccionar bien con las preparaciones desnaturalizadas, y esto es compatible con el concepto de que la mayoría reconoce estructuras (superficie) topográficas (es decir epítopos), lo que depende de la conformación de la molécula nativa. Por esta razón, los anticuerpos contra proteínas nativas por lo común no reaccionan de modo tan intenso con los péptidos que poseen la misma secuencia primaria (fig. 5-2). Cuando se mapean los epítopos individuales mediante el uso de anticuerpos monoclonales homogéneos (véase pág. 133), con frecuencia se observa que involucran residuos de aminoácidos muy distanciados en la secuencia primaria, pero reunidos en el plegamiento de las cadenas peptídicas en la proteína nativa (figs. 5-3 y 5-5). En estos casos parece razonable hablar de **discontinuos** o agrupados más que **continuos** o secuenciales.

Si se tomara cada anticuerpo individual dentro de un antisuero elaborado contra un antígeno proteico y se trazara el centro aproximado del epítopo correspondiente en la superficie del antígeno, se acabaría casi con certeza con un "mapa de contorno" de la densidad del epítopo que indica las regiones en la superficie del antígeno de los **cúmulos de epítopos dominantes** (fig. 5-4a y b). Cada uno de estos cúmulos es lo más cercano a una definición de **determinante** antigénico. Es importante tomar conciencia de que cada antígeno por lo común posee varios determinantes en su superficie, que pueden ser distintos entre sí desde el punto de vista estructural; así, un anticuerpo monoclonal que reacciona con un determinante de modo habitual no reaccionará con cualquier otro determinante en el mismo antígeno, a menos que la molécula posea ejes de simetría (fig. 5-4c).

Identificación de los epítopos de las células B

Éste es un tema de interés particular para los que deseen elaborar sustitutos de péptidos simples para

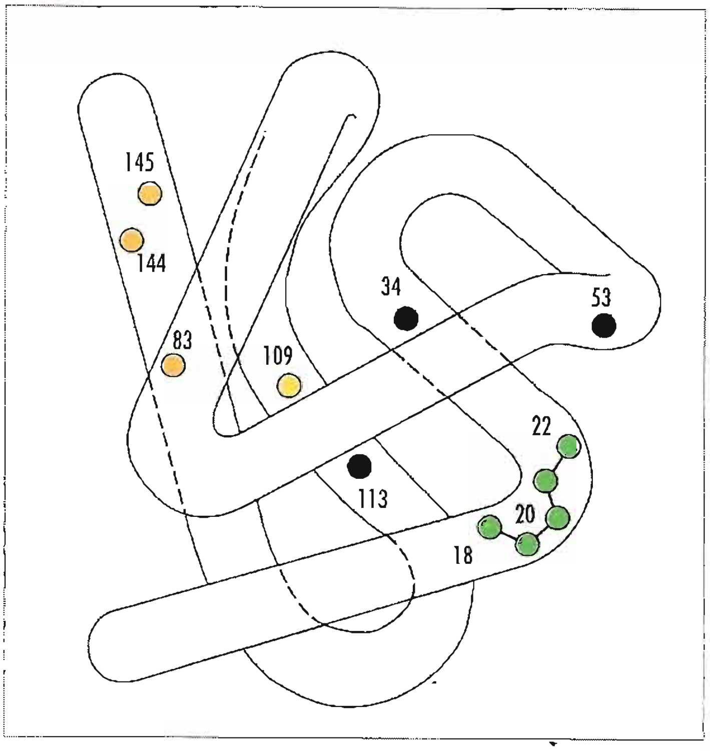


Fig. 5-3. Residuos de epítopos en la cadena peptídica plegada de la cadena de mioglobina de esperma de ballena. Los residuos de aminoácidos 34, 53 y 113 (●) contribuyen con el epítopo reconocido por un anticuerpo monoclonal homogéneo; los residuos 83, 144 y 145 (🟡), con otro. Estos son claramente epítopos discontinuos. Se postula que los aminoácidos 18-22 (🟢—🟢) forman parte de un epítopo continuo sobre la base de reacciones con péptidos aislados. Gran parte de la cadena de mioglobina está en la forma α-helicoidal. El residuo 109 (🟡) es crítico para el reconocimiento de la célula T y hasta el presente no se demostraron anticuerpos que reaccionen con este sitio. (Basado en Benjamin DC et al. *Annual Review of Immunology* 1986; 2:67.)

antígenos proteicos complejos. En general, las proteínas de gran tamaño, dado que poseen más determinantes potenciales, son mejores antígenos que las pequeñas. Cuanto más extraño es el antígeno, es decir, menos similar a las configuraciones propias que inducen tolerancia, resulta más eficaz para provocar una respuesta inmune.

Las partes de las cadenas peptídicas que protruyen de manera significativa de la superficie globular tienden a ser sitios de alta densidad de epítopos. Los segmentos menos antigénicos de la superficie se asocian con las regiones cóncavas vecinas que contienen moléculas de agua que pueden ser más difíciles de desplazar. Sin embargo, la predicción de los epítopos de las células B, incluso cuando uno conoce la estructura tridimensional de un antígeno, todavía es una tarea bastante frustrante, entre otras cosas porque cada huésped inmunizado tiene su propia manera de reconocer las diferentes regiones de un antígeno dado. De hecho, la única unidad de

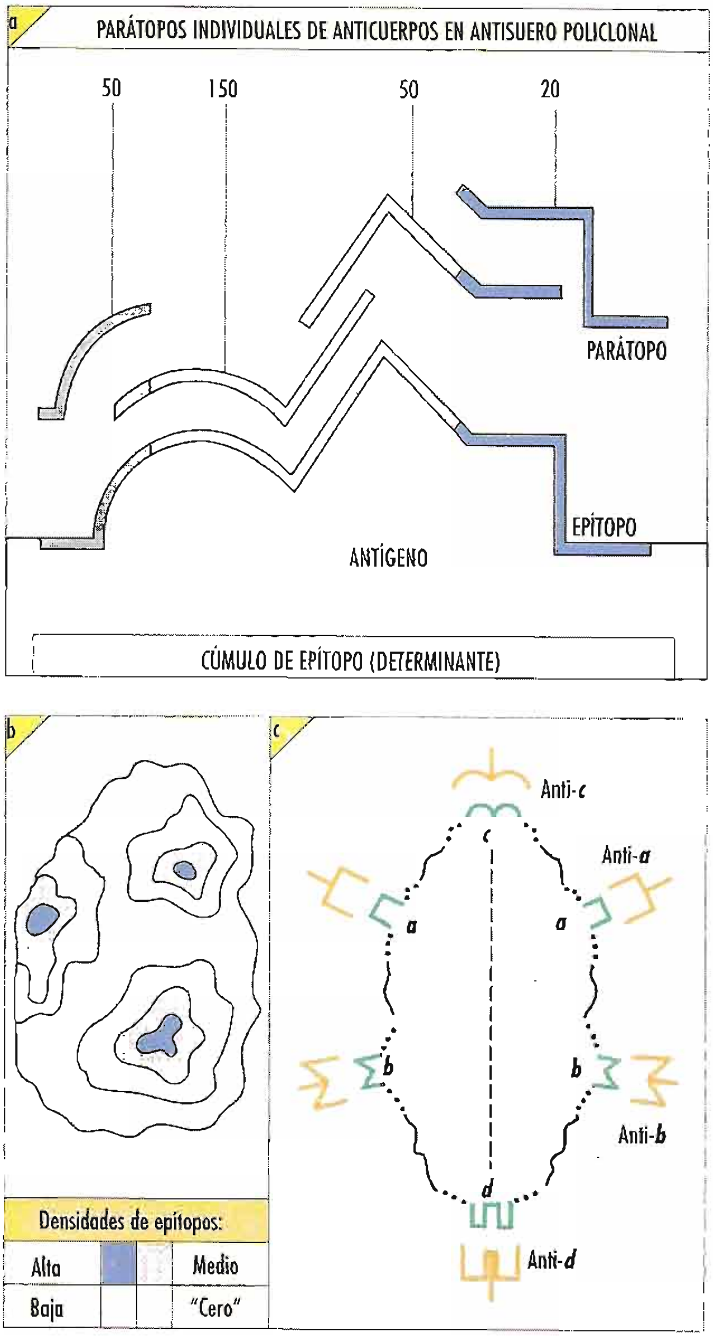


Fig. 5-4. Un antígeno proteico globular por lo común posee un mosaico de determinantes (cúmulos de epítopos dominantes) en su superficie, definido por la población heterogénea de moléculas de anticuerpos en un antisuero dado. **a)** Diagrama idealizado que ilustra la idea de que los anticuerpos individuales en un antisuero policlonal con diferentes sitios de combinación (parátopos) pueden reaccionar con epítopos superpuestos y formar un determinante en la superficie del antígeno. Los números se refieren a la frecuencia relativa imaginada de cada especificidad de anticuerpo. **b)** Mapa del "contorno" hipotético de la superficie que muestra la manera en que los determinantes representan regiones de cúmulos de epítopos superpuestos, cuyas posiciones están marcadas como el centro del área que establece contacto con el anticuerpo. El tamaño real de un epítopo aislado puede calcularse si se observa la figura 5-5. **c)** Corte transversal de un antígeno teórico con un eje de simetría que despliega seis determinantes que incluyen dos pares que son idénticos. Los cúmulos de anticuerpos superpuestos en cada determinante (se muestra un representante de cada cúmulo de anticuerpos) no reaccionan con otros determinantes no relacionados desde el punto de vista estructural.

reconocimiento que puede desplegarse para identificar un epítopo es la que lo define, a saber, el anticuerpo que posee el parátopo complementario.

La máxima precisión la proporciona sin dudas el análisis cristalográfico con rayos X de un complejo de un anticuerpo monoclonal (o un fragmento de él) con el antígeno (véase fig. 5-5). Aunque se resolvieron más de un centenar de estas estructuras, este enfoque no es apto para que lo realicen todos los científicos, ya que constituye un método difícil, insume tiempo y requiere alta tecnología. Una estrategia alternativa, aplicable a los antígenos proteicos, es llevar a cabo una serie de mutaciones para localizar los residuos que proporcionan las uniones dominantes al anticuerpo –útil pero con ciertas limitaciones–. Los intentos para imitar el epítopo mediante la elaboración de péptidos sintéticos se describirán más adelante (pág. 332). Como anticipo, es una buena alternativa para los epítopos lineales y frustrante para los discontinuos.

ANTÍGENOS Y ANTICUERPOS INTERACTÚAN POR COMPLEMENTARIEDAD ESPACIAL Y NO POR UNIONES COVALENTES

La variación en la estructura del hapteno muestra la importancia de la forma

Una vez encontrado un método para elaborar anticuerpos contra haptenos pequeños químicamente definidos (fig. 5-1), fue posible relacionar las variaciones en la estructura química de un hapteno con su capacidad de unirse a un anticuerpo dado. En un experimento se probaron los anticuerpos elaborados contra sulfonato de *m*-aminobenceno por su capacidad de combinarse con los isómeros *orto*,

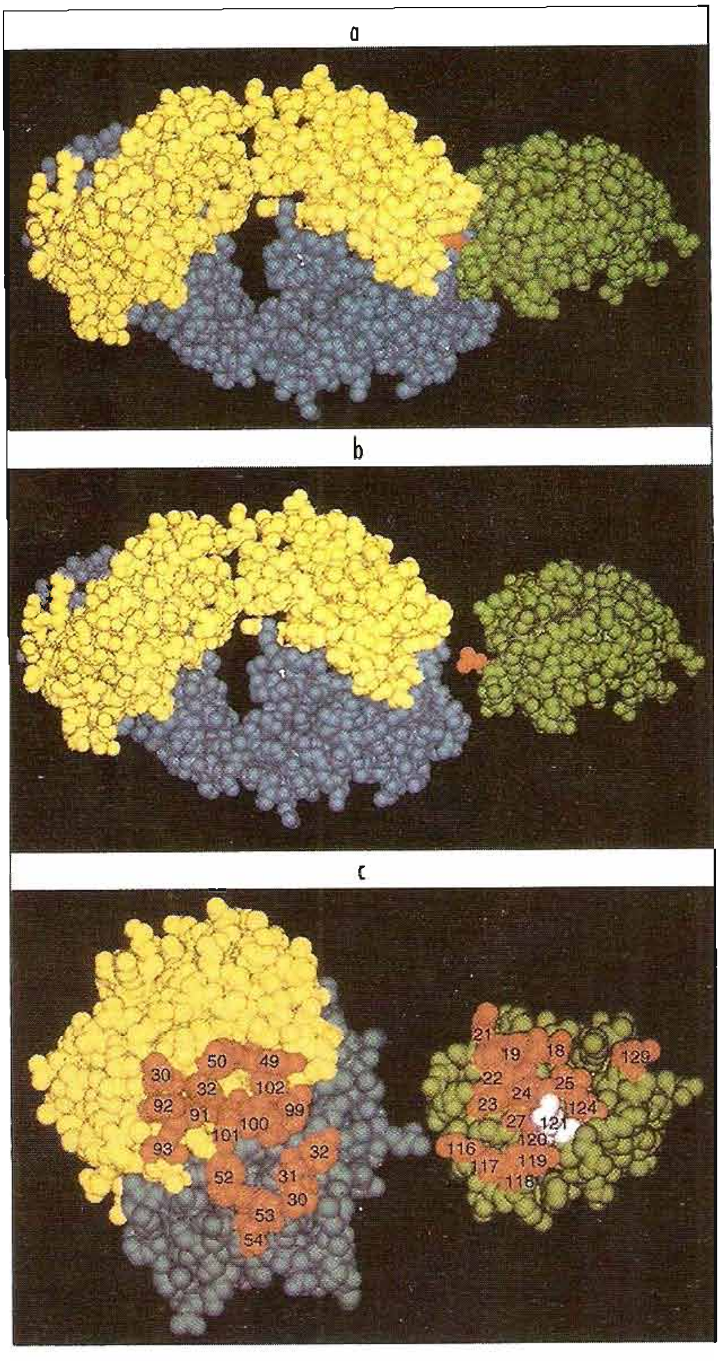
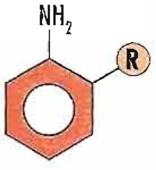
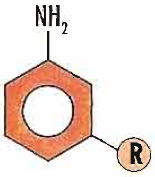
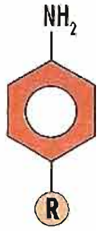
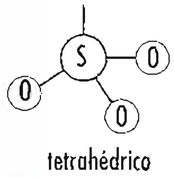
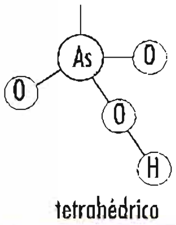
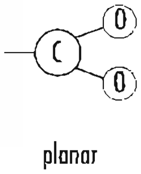


Fig. 5-5. Estructura de las regiones de contacto entre un anticuerpo Fab monoclonal antilisozima y lisozima. a) Modelo espacial que muestra las moléculas de Fab y de lisozima que encajan entre sí de manera ajustada. La cadena pesada del anticuerpo es azul; la cadena liviana, amarilla; la lisozima, verde con glutamina 121 en rojo. **b)** Los modelos de Fab y de lisozima separados para mostrar el modo en que las protuberancias y depresiones de cada uno son complementarias entre sí. **c)** Imágenes frontales del sitio de combinación del anticuerpo (izquierda) y del epítopo de la lisozima (derecha) obtenidas a partir de **b)** por rotación de 90º de cada molécula sobre un eje vertical. Los residuos de contacto son rojos, excepto Gln121 que aparece de color púrpura claro. El residuo Gln121 encaja en una cavidad de la superficie del anticuerpo rodeada por residuos V_L 32, 91, 92 y 93, y residuos V_H 101. Los dieciséis residuos de contacto en el epítopo de la lisozima comprenden: ocho aminoácidos de un intervalo de 10 aminoácidos en las posiciones 18-27, siete aminoácidos de un intervalo de nueve aminoácidos en las posiciones 116-124, junto con el residuo de aminoácido 129, es decir, ésta es una evidencia clara de un epítopo discontinuo. Todos los CDR hacen el contacto con el antígeno: en la cadena pesada los residuos 30-32 (CDR1), 52-54 (CDR2) y 99-102 (CDR3), y en los residuos de la cadena liviana 30 y 32 (CDR1), 49 y 50 (CDR2) y 91-93 (CDR3). Todos los residuos que contactan pueden no contribuir de manera positiva con las fuerzas de atracción entre el antígeno y el anticuerpo; la influencia llamativa del residuo Gln121 está revelada por la unión deficiente de las lisozimas provenientes de otras especies en las que el residuo Gln121 es reemplazado por histidina. (Reproducido con autorización de Amit A, et al. *Science* 1986; 233:747. Copyright © 1986 por la AAAS.)

Cuadro 5-1. *Efecto de las variaciones en la estructura del hapteno en la fuerza de unión a los anticuerpos elaborados contra el sulfonato de m-aminobenceno. La reacción del anticuerpo con el hapteno original contra el que fue elaborado se destaca en el recuadro. (De Landsteiner K, van der Scheer J.* Journal of Experimental Medicine *1936; 63,325)*

	 ORTO	 META	 PARA
R = SULFONATO  tetrahédrico	++	+++	±
R = ARSONATO  tetrahédrico	−	+	−
R = CARBOXILATO  planar	−	±	−

meta y *para* de haptenos y moléculas relacionadas en los que el grupo sulfonato se sustituyó por arsonato o carboxilato (cuadro 5-1). El hapteno con el grupo sulfonato en la posición *orto* se combina de un modo algo peor con el anticuerpo que el isómero *meta* original, pero el compuesto *para*-sustituido (similar desde el punto de vista químico al isómero *orto*) muestra muy escasa reactividad. La sustitución de sulfonato por arsonato conduce a una combinación más débil con el anticuerpo; ambos grupos poseen una carga negativa y una estructura tetraédrica, pero el grupo arsonato es más grande en tamaño y posee un átomo de H más. Los aminobenzoatos en los que el sulfonato está sustituido por el grupo carboxilato planar con carga negativa muestran incluso menos afinidad por el anticuerpo. Parece que la configuración **global** del hapteno es aun más importante que su naturaleza **química**, es decir, el hapteno se reconoce por la forma tridimensional global de su nube electrónica externa y no por su reactividad química. La producción de anticuerpos contra moléculas tan extrañas como el sulfonato y el arsonato de benceno puede volverse más comprensible si se considera que están dirigidos contra una forma de nube de electrones particular, en lugar de hacerlo contra una estructura química específica.

Puede demostrarse la complementariedad espacial del epítopo y el parátopo

Resultó posible, aunque con cierta dificultad, cristalizar un complejo del fragmento Fab de un anticuerpo monoclonal anti-lisozima con su antígeno. El análisis con rayos X de estos cristales fue convincente; el antígeno y el anticuerpo encajaron de modo firme debido a la complementariedad en la forma en una amplia área de contacto (fig. 5-5). Estudios similares con otros anticuerpos monoclonales que reaccionaban con el mismo antígeno confirmaron el tipo de encaje "llave y cerradura" entre el parátopo y el epítopo. Es importante no considerar el concepto "llave y cerradura" como entidades inflexibles, como dos trozos de roca, ya que sería muy difícil para un animal producir un anticuerpo con esta superficie complementaria singular. De hecho, la mayoría de los anticuerpos monoclonales anti-lisozima estudiados de esta manera reveló cambios significativos en la columna polipeptídica de hasta 1,0 Å cuando el anticuerpo forma un complejo con su antígeno (véase fig. 5-6), y si se agrega a la ecuación la posibilidad de movimiento rotatorio de las cadenas laterales del aminoácido y alteraciones en las posiciones relativas de los dominios variables de las cadenas livianas y pesadas (V_L/V_H) en el Fab, parece más correcto pensar en un antígeno y un anticuerpo como superficies en alguna medida mutuamente deformables; es decir, más parecidas a nubes que a rocas, como lo expresó Lerner de un modo gráfico. En este contexto, es pertinente dirigir la atención a la asociación entre las partes de un antígeno proteico que proporciona los epítopos dominantes para la unión con el anticuerpo y la flexibilidad de su cadena peptídica determinada por los factores de temperatura derivados de la cristalografía con rayos X. Esta mutua acomodación de estructuras en el antígeno y en el anticuerpo permite de manera evidente el máximo contacto, pero hay un precio que pagar y es el consumo de energía reque-

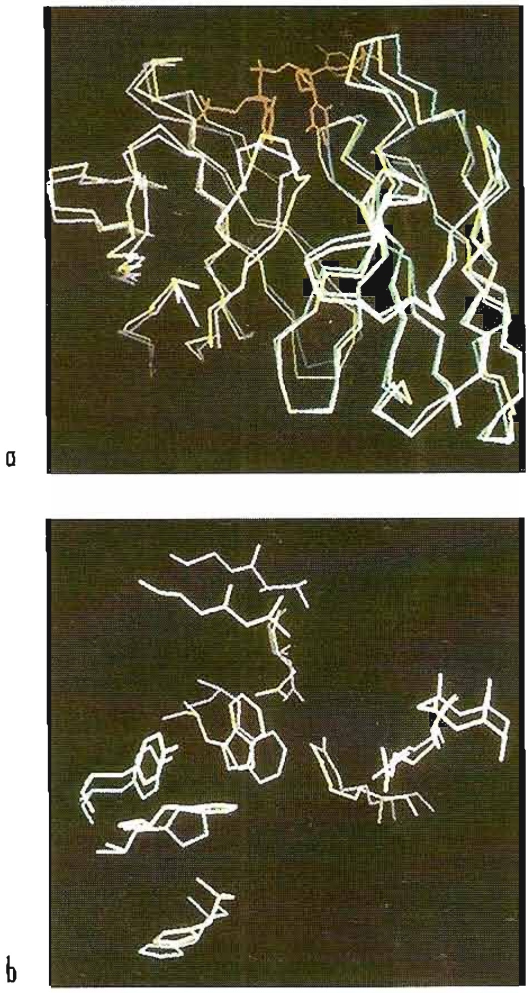


Fig. 5-6. Flexibilidad estructural del anticuerpo durante la formación del complejo con el antígeno. a) Cambios conformacionales significativos (0,5-1,0 Å) se producen en la columna Cα de las regiones determinantes de complementariedad (CDR) de la fracción Fab de un autoanticuerpo específico para un DNA monocatenario, que forma un complejo con un fragmento de antígeno (trímero de timidina). Sólo se muestran los dominios Fv ($V_H + V_L$) del anticuerpo. El Fv sin ligando es amarillo y el ligando (antígeno) es rojo. En la forma de complejo, el V_L es azul y el V_H púrpura. b) Movimientos en las cadenas laterales de aminoácidos contactantes como resultado de la unión con el antígeno. (Reproducción con autorización de Herron JN, He XM, Ballard DW, Blier PR, Pace PE, Bothwell ALM, Voss EW Jr, Edmondson AB. *Proteins* 1991; 11:150. Reimpreso con autorización de Wiley Liss, una división de John Wiley and Sons, Inc.)

rida para inducir estos cambios conformacionales. Sin embargo, en general esto será más que compensado por el cambio de energía libre intrínseca asociado con la formación de nuevos sitios de unión (fig. 5-7a y b). Esta energía recibida para producir el cambio conformacional que conduce a una unión más firme parece ser el factor responsable de la presencia frecuente de cadenas laterales hidrófobas normalmente "ocultas" como residuos de contacto para el anticuerpo.

En el caso de los antígenos constituidos por proteína globulares, el área de contacto entre el epítopo y el parátopo es bastante grande, del orden de 600-800 Å². Las tirosinas y los triptófanos tienden a producirse con una frecuencia mayor en el sitio de combinación que en el resto de la molécula de anticuerpo. Ambos pueden formar puentes de H con solvente o antígeno, además de tener grandes superficies hidrófobas, característica de innegable utilidad para los residuos expuestos al agua cuando el anticuerpo está libre pero oculto (es decir, excluido del contacto con el solvente) cuando interactúa de manera íntima con el antígeno.

Las uniones antígeno-anticuerpo son fácilmente reversibles

Si el eslabón entre el epítopo y el parátopo depende por completo de la complementariedad espacial y no involucra la formación de uniones químicas covalentes, no debería ser muy difícil separarlos. Esto puede probarse con facilidad. Si se coloca una mezcla de hapteno con anticuerpo dentro de una bolsa de diálisis, se encontrará que el hapteno difunde hacia el exterior, al líquido circundante, hasta que se alcanza un equilibrio en el que algo de hapteno está unido al anticuerpo y algo está libre; si este líquido exterior se renueva de manera continua, todo el hapteno se perderá de la bolsa de diálisis, lo que demuestra que puede disociarse por completo del anticuerpo (fig. 5-8). Con antígenos de mayor tamaño los complejos pueden disociarse por un cambio en el pH que provoca alteraciones en la conformación de la proteína y destruye la complementariedad de los dos reactantes. Como se verá más adelante (pág. 139), este principio puede utilizarse para la purificación de antígenos o anticuerpos por cromatografía de afinidad.

LAS FUERZAS DE UNIÓN DEL ANTÍGENO AL ANTICUERPO AUMENTAN A MEDIDA QUE LAS DISTANCIAS INTERMOLECULARES DISMINUYEN

Las fuerzas involucradas en la unión del anticuerpo con el antígeno son no covalentes y por consiguiente reversibles; asimismo, por lo general sólo son efectivas en distancias cortas. Pueden clasificarse bajo cuatro títulos.

1) *Electrostáticas.* Atracción entre grupos con cargas iónicas opuestas (fig. 5-9a). Las fuerzas electrostáticas opuestas necesitan estar aproximadamente equiparadas entre sí, si el anticuerpo está unido con fuerza al antígeno.

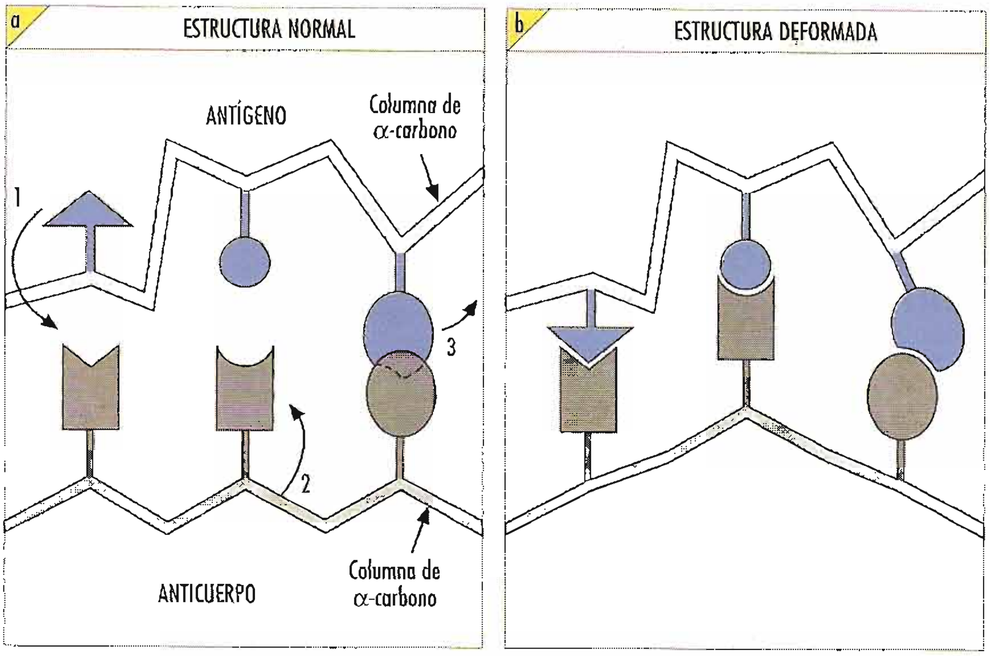


Fig. 5-7. La flexibilidad del antígeno y del anticuerpo contribuye con la afinidad para la unión. En la ilustración mostramos: a) tres tipos de reacciones que consumen energía requeridas para deformar ambas moléculas, lo que por eso permite b) la interacción positiva entre los residuos del parátopo y del epítopo: 1) rotación de una unión que expone una cadena lateral hidrófoba oculta en el interior, 2) flexión de la columna de α-carbono para aproximar los residuos que interactúan y 3) desplazamiento lateral de un residuo cuyas nubes de electrones se superponen con las de su par opuesto. Siempre que la energía total de deformación sea menor que la energía de atracción de las moléculas deformadas, se favorecerá la formación de complejos. Expresado en términos matemáticos:

Energía libre de deformación = $(\Delta G_1 + \Delta G_2 + \Delta G_3) = \Delta G_{def}$

donde ΔG_1 es la variación de energía libre de Gibbs de la reacción (1) y así sucesivamente.

La energía de asociación del antígeno y del anticuerpo deformados = la suma de las energías de unión individuales = $\Delta G_{unión}$ (una fuerza de atracción brinda un ΔG negativo).

La variación de la energía global para la formación del complejo = $\Delta G_{def} + \Delta G_{unión} = - RT \ln K_a$

Siempre que $-\Delta G_{unión} > \Delta G_{def}$, el antígeno y el anticuerpo se asociarán en equilibrio con una razonable constante de afinidad de asociación K_a. (R, constante de los gases; T, temperatura absoluta; ln, logaritmo natural.)

Si el antígeno fuese completamente rígido, sería incapaz de acercarse lo suficiente al anticuerpo para generar una energía de unión importante.

2) *Puentes de hidrógeno.* Un hidrógeno se comparte entre dos átomos electronegativos (fig. 5-9b). Los puentes de hidrógeno pueden generarse entre átomos como oxígeno, nitrógeno o azufre. Además, las moléculas de agua pueden llenar las cavidades en la interfase, que de otro modo tendrían un efecto desestabilizante en el complejo, y estas moléculas de agua pueden formar puentes de hidrógeno para conectar el anticuerpo y el antígeno.

3) *Hidrófobas.* Los grupos hidrófobos pueden interactuar entre sí en lugar de hacerlo con moléculas de agua (fig. 5-9c). Estas interacciones hidrófobas a menudo desempeñan un papel importante en la unión antígeno-anticuerpo.

4) *Van der Waals.* Son fuerzas entre moléculas que dependen de la interacción entre las "nubes de electrones" externas (fig. 5-9d). Las fuerzas de Van der Waals son responsables de una minoría –entre el 2 y el 20%– del total de la energía de interacción en la unión de un anticuerpo típico con su antígeno.

Una característica esencial común a los cuatro tipos de fuerzas es que dependen del acercamiento íntimo de ambas moléculas antes de que las fuerzas adquieran una magnitud significativa, más aun si se excluyen las moléculas de agua y esto es lo principal de la combinación del antígeno con el anticuerpo. Las formas de las nubes de electrones **complementarias** en el sitio de combinación del anticuerpo y el determinante de superficie del antígeno permiten que las dos moléculas encajen de manera ajustada (véase fig. 5-5), de modo que **la distancia intermolecular se torna muy pequeña y aumentan en grado considerable las fuerzas de interacción no covalentes de las proteínas**; cuanto mayor son las áreas de antígeno y anticuerpo que encajan entre sí, mayor es la fuerza de atracción, en particular si hay aposición de cargas opuestas y agrupaciones hidrófobas.

Por el contrario, cuando las nubes de electrones de dos moléculas se superponen de manera eficaz, se generan poderosas fuerzas de repulsión y debe consumirse energía para desplazar los residuos superpuestos de sus posiciones normales de equilibrio.

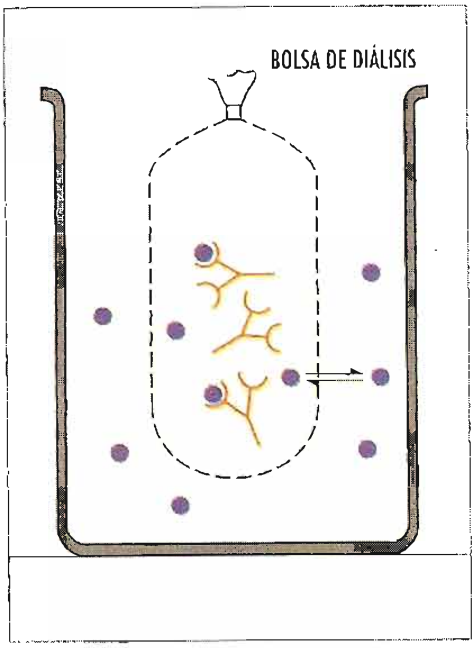


Fig. 5-8. Reversibilidad de la interacción entre el anticuerpo (−<) y el hapteno (●). Dentro de la bolsa de diálisis el hapteno se encuentra en parte en la forma libre y en parte unido al anticuerpo según la afinidad del anticuerpo. Sólo el hapteno puede difundir a través de la membrana de diálisis y la concentración externa igualará la del hapteno no unido dentro de la bolsa. La determinación del hapteno total en la bolsa de la diálisis permite luego calcular la cantidad unida al anticuerpo. La renovación constante del buffer externo dará por resultado la disociación total y la pérdida del hapteno dentro de la bolsa de diálisis, lo que muestra la naturaleza reversible de la unión antígeno-anticuerpo.

LA AFINIDAD MIDE LA FUERZA DE UNIÓN DEL ANTÍGENO Y DEL ANTICUERPO

En los estudios con microscopio electrónico sobre la interacción entre un conjugado de DNP divalente y un anticuerpo, cada grupo DNP encajaba en un sitio de combinación del anticuerpo (figs. 3-1 y 3-2).

Esto significa que los haptenos de pequeño tamaño en sí son monovalentes en lo que respecta a la reacción con el anticuerpo. El experimento de la mezcla del hapteno con el anticuerpo en una bolsa de diálisis (fig. 5-8) mostró que la combinación con el anticuerpo era reversible y que el complejo así formado podría disociarse con facilidad en función de la fuerza de unión, a la que denominamos **afinidad**. En la situación simplista de un brazo de unión Fab aislado a un epítopo en el antígeno, la fuerza de unión puede definirse mediante la **constante de equilibrio** (K_a) de la **reacción de asociación**:

$$\mathrm{Ac} + \mathrm{Ag} \rightleftharpoons \mathrm{AcAg}$$

dada por la ecuación de acción de las masas

$$K_a = \frac{[\mathrm{AcAg}]}{[\mathrm{Ac}]\,[\mathrm{Ag}]}$$

donde [Ac] es la concentración de los sitios de combinación libres del anticuerpo y [Ag] es la concentración del antígeno libre en equilibrio. Si el anticuerpo y el antígeno encajaran juntos de modo muy íntimo, el equilibrio estaría bien a la derecha de la reacción de asociación; nos referimos a estos anticuerpos que se unen con fuerza al antígeno como **anticuerpos de alta afinidad**. A cierta concentración de antígeno libre [$\mathrm{Ag_c}$], donde la mitad de los sitios de anticuerpos están unidos:

$$[\mathrm{AcAg}] = [\mathrm{Ac}] \text{ y } K_a = 1/[\mathrm{Ag_c}]$$

es decir, la constante de afinidad K_a es igual a la recíproca de la concentración del antígeno libre en el punto de equilibrio donde la mitad de los sitios de anticuerpos se encuentran en la forma unida. En otras palabras, cuando un anticuerpo tiene una alta constante de afinidad y se une al antígeno con firmeza, sólo necesita una baja concentración del antígeno para saturar la mitad del anticuerpo. Un epítopo individual en la superficie de un antígeno complejo es por definición monovalente, la fuerza de su combinación con uno de los brazos (Fab) de unión al antígeno de un anticuerpo se define por consiguiente por una constante de afinidad.

Asimismo la afinidad puede definirse en términos de **constante de disociación** (K_d) de la reacción:

$$\mathrm{AcAg} \rightleftharpoons \mathrm{Ac} + \mathrm{Ag}$$

Si las concentraciones se expresan en moles por litro:

$$K_d = \frac{[\text{moles de Ac}/\mathrm{L}][\text{moles de Ag}/\mathrm{L}]}{[\text{moles de AcAg}/\mathrm{L}]}$$

Es claro que K_d es la recíproca de K_a, es decir, $1/K_a$ y sus unidades son moles/L o M. Al contrario, K_a se

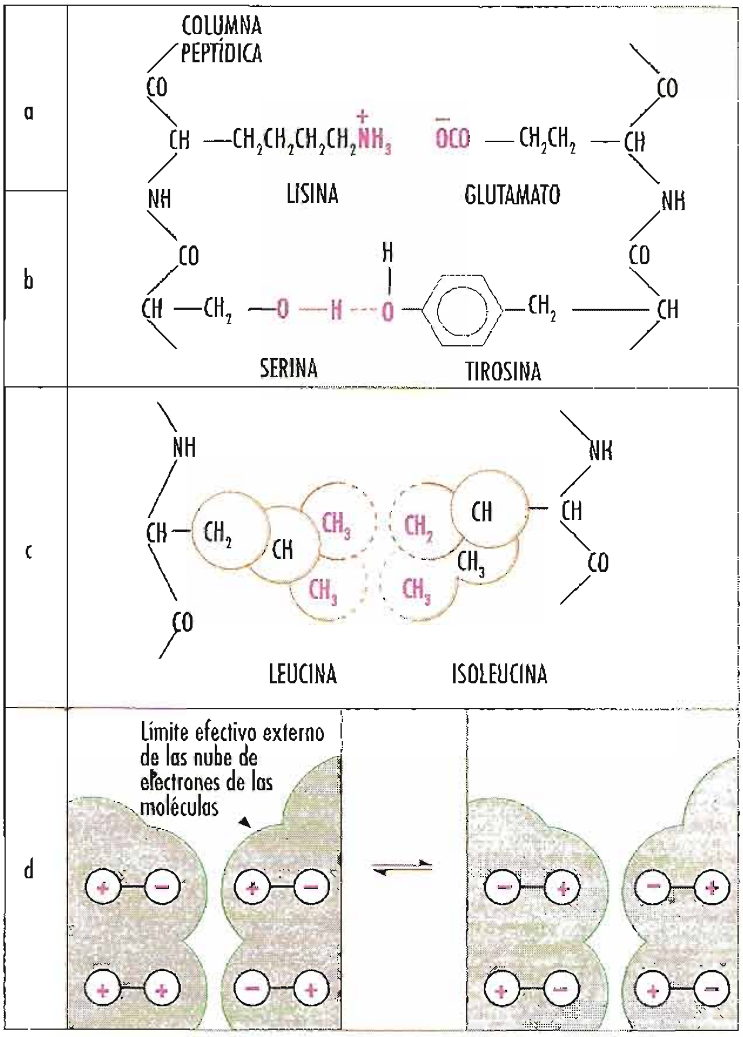


Fig. 5-9. Interacciones proteína-proteína. a) Atracción culómbica entre los grupos con carga iónica opuesta en la dos cadenas laterales de proteínas ilustrada por un grupo amino ionizado (NH_3^+) en la lisina de una proteína y un grupo carboxilo ionizado ($-COO^-$) del glutamato en la otra. La fuerza de atracción es inversamente proporcional al cuadrado de la distancia entre las cargas. Así, cuando las cargas se aproximan, la fuerza de atracción aumenta de manera considerable: si partimos en dos la distancia de separación, cuadruplicamos la fuerza de atracción. Además, dado que la constante dieléctrica del agua es muy alta, la eliminación de las moléculas de agua a través de la contigüidad de los residuos que interactúan aumentarían en gran medida la fuerza de atracción. Los dipolos en el antígeno y en el anticuerpo también se atraen entre sí. Además, pueden generarse fuerzas estáticas por reacciones de transferencia de cargas entre el anticuerpo y el antígeno; por ejemplo, un residuo de proteína que dona un electrón como el triptófano podría ceder un electrón a un grupo como el dinitrofenol (DNP), que es un aceptor, por lo que se crea una carga efectiva +1 en el anticuerpo y –1 en el antígeno. b) La unión hidrógeno entre dos proteínas, que comprende la formación de puentes hidrógeno reversibles entre grupos hidrófilos, como •OH, •NH_2 y •COOH, depende mucho de la aproximación íntima de dos moléculas que poseen estos grupos. Si bien las uniones de H son relativamente débiles, porque son de naturaleza electrostática, la eliminación de agua de las cadenas laterales que reaccionan aumentaría en gran medida la energía de unión mediante la reducción importante en la constante dieléctrica. c) Los grupos hidrófobos no polares, como la valina, la leucina y la isoleucina de la cadena lateral tienden a asociarse en un medio acuoso. La fuerza que interviene en esta interacción hidrófoba proviene de que el agua en contacto con las moléculas hidrófobas (———), con las que no puede formar una unión H, se asociará con otras moléculas de agua; pero la cantidad de configuraciones que permiten formar uniones H no sería tan grande como la que se produce cuando están rodeadas por completo de moléculas de agua, es decir, la entropía es más baja. Cuanto mayor es el área de contacto entre el agua y las superficies hidrófobas, menor es la entropía y mayor el estado de energía. Así, si los grupos hidrófobos en dos proteínas se juntan, de modo que eliminan moléculas de agua entre ellas (- - - - -), la superficie neta en contacto con el agua se reduce y las proteínas adquieren un estado de energía más bajo que cuando están separadas (en otras palabras, existe una fuerza de atracción entra ellas). d) Fuerza de Van der Waals: la interacción entre los electrones en las órbitas externas de dos macromoléculas diferentes puede considerarse (¡para simplificar!) como la atracción entre dipolos oscilantes inducidos en las dos nubes de electrones. La naturaleza de esta interacción es difícil de describir en otros términos que no sea matemáticos; pero se relacionó con una perturbación temporaria de electrones en una molécula que forma de manera efectiva un dipolo que induce una perturbación dipolar en la otra molécula, luego, los dos dipolos establecen una fuerza de atracción entre ellos; a medida que los electrones desplazados se balancean hacia atrás y adelante en los extremos de la posición de equilibrio, los dipolos oscilan. La fuerza de atracción es inversamente proporcional a la potencia siete de la distancia y, como resultado, ésta se eleva con mucha rapidez a medida que se aproximan las moléculas que interactúan.

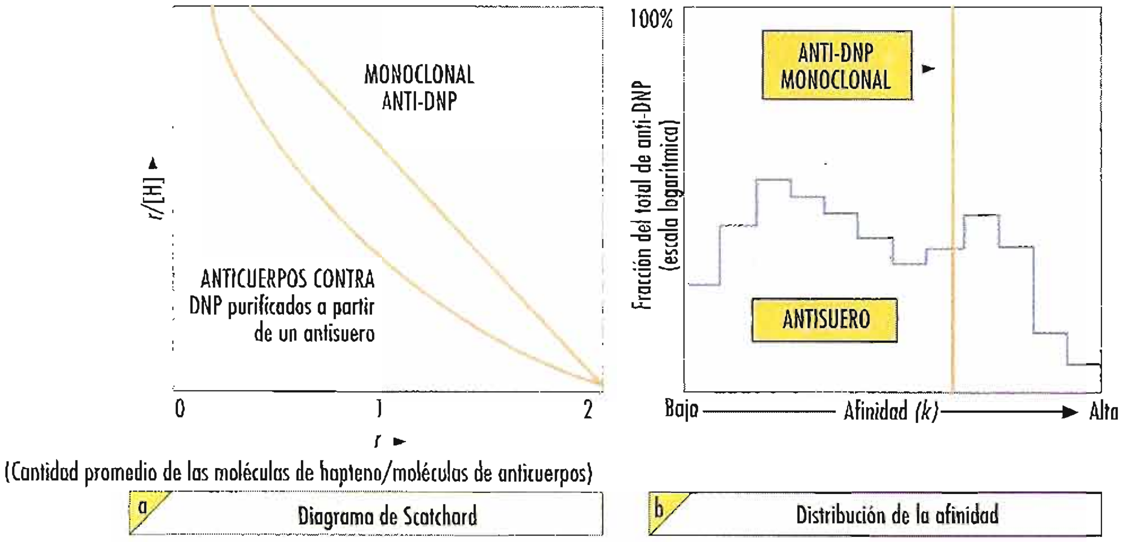


Diagrama de Scatchard

Distribución de la afinidad

Fig. 5-10. **Heterogeneidad del anticuerpo IgG anti-hapteno** (dinitrofenol, DNP) proveniente del suero de un animal inmunizado que contrasta con la homogeneidad de una IgG monoclonal anti-DNP. a) Diagrama de Scatchard de la unión del hapteno con anticuerpos purificados del suero. Si r representa el número promedio de moléculas de DNP unidas a cada molécula de anticuerpo, de constante de afinidad k y cantidad de sitios de unión n, en presencia de una concentración libre de hapteno [H], entonces a partir de la ecuación de acción de las masas de las relaciones de equilibrio (pág. 96) puede mostrarse que:

$$r/[H] = nk - rk$$

Así, un diagrama de Scatchard de $r/[H]$ contra r para una sola especie de anticuerpo será una línea recta de pendiente k, como se observa para el anticuerpo monoclonal; la desviación de una línea recta dada por el anti-DNP proveniente del antisuero indica con claridad la existencia de anticuerpos con afinidades diferentes, como puede confirmarse por la unión de DNP marcado con muchas bandas diferentes después de la separación de los anticuerpos séricos individuales por técnicas de enfoque isoeléctrico. La extrapolación a $r/[H] = 0$ (en una concentración infinitamente alta de antígeno) da 2 como cantidad de sitios de unión en cada molécula de IgG (véase fig. 3-2). En el caso de los anticuerpos IgM, el valor sería 10. Debido a que la pendiente en el diagrama de Scatchard varía con $r/2$ (la fracción de ocupación de los sitios de combinación para un anticuerpo bivalente), la afinidad (que es = - pendiente) variará de acuerdo con los límites de valores de r utilizados en los experimentos: por lo tanto, la afinidad debe definirse en términos de condiciones estándar de la concentración del anticuerpo y de la concentración del hapteno. b) Histograma que muestra una distribución típica de afinidades del anticuerpo en el suero con anti-DNP. Las afinidades medibles tienden a variar entre 10^4 y 10^{10} o 10^{11} M^{-1} y presentan distribuciones sesgadas y no siempre unimodales. De hecho, el anticuerpo monoclonal da un valor único de afinidad dado que es una proteína homogénea.

expresa en las unidades L/mol o M^{-1} y tiene la ventaja de que cuanto mayor es la fuerza de unión la cifra es más alta.

El valor de K_a está determinado por la diferencia en la energía libre (ΔG) entre el antígeno y el anticuerpo en el estado libre por un lado y en la forma de complejo por otro, de acuerdo con la ecuación:

$$\Delta G = -RT \ln K_a$$

donde R es la constante universal de los gases, T es la temperatura absoluta y ln es el logaritmo natural.

Es posible estudiar la interacción del hapteno y el anticuerpo por el método de diálisis descrito en la figura 5-8 y los datos pueden utilizarse para calcular la constante de afinidad a partir de la ecuación de acción de las masas (fig. 5-10). Los valores de K_a pueden alcanzar valores altos como 10^{12} M^{-1}.

El análisis de la unión con diferentes concentraciones de hapteno muestra una heterogeneidad (fig. 5-10), lo que indica que la mayoría de los antisueros, incluso los originados contra los haptenos con estructura más simple, contiene una variedad de anticuerpos diferentes con variaciones en las afinidades de unión que dependen del área de contacto entre el anticuerpo y el hapteno o epítopo, la aproximación del encaje, los cambios conformacionales necesarios para que haya superposición de la nube de electrones y la distribución de grupos con carga eléctrica e hidrófobos.

Avidez del antisuero por el antígeno; efecto de bonificación de la multivalencia

Mientras que el término afinidad describe la unión del anticuerpo a un hapteno monovalente o

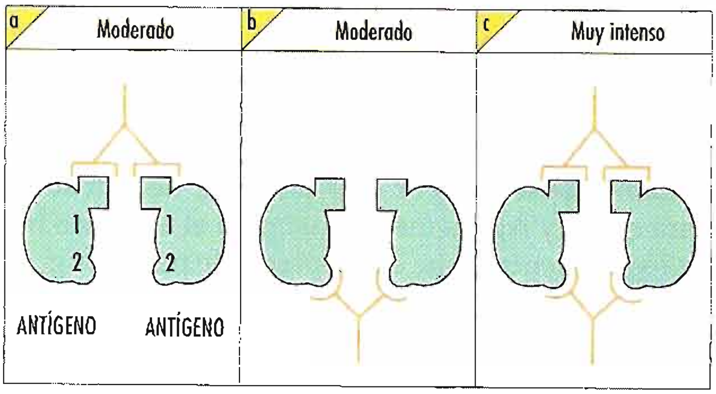


Fig. 5-11. Efecto bonificación del enlace multivalente en la fuerza de unión. La fuerza que une las dos moléculas del antígeno en (c) con dos puentes de anticuerpos es muchas veces mayor que (**a**) + (**b**). Así, la unión de los dos anticuerpos a los determinantes 1 y 2 en el antígeno puede describirse cada una por el cambio individual en el estado de energía libre en la formación de la unión epítopo-parátopo con su correspondiente constante de afinidad, es decir:

$\Delta G_1 = -RT \ln k_1$ y $\Delta G_2 = -RT \ln k_2$

En el caso de ambos anticuerpos que actúan en conjunción, el cambio de energía libre global que da la avidez (K_{avid}) sería:

$$\begin{aligned} \Delta G = \Delta G_1 + \Delta G_2 &= -RT \ln k_1 - RT \ln k_2 \\ &= -RT (\ln k_1 + \ln k_2) = -\text{RT} (\ln k_1 \times k_2) \end{aligned}$$

Dado que $\Delta G = -RT \ln K_{\text{avid}}$, $K_{\text{avid}} = k_1 \times k_2$

El tremendo aumento en la constante de equilibrio como resultado de **multiplicar las afinidades de contribución** es responsable del efecto de bonificación. Para dar un ejemplo concreto, si k_1 es 10^4 y k_2 es 10^3, K_{avid} sería $10^7\ \text{M}^{-1}$. En la práctica, este efecto bonificación se reduciría por pérdidas de la entropía que son resultado de cualquier restricción de la flexibilidad de las moléculas del anticuerpo requeridas por adaptación a las demandas espaciales de los epítopos y de la restricción en el movimiento traslacional de los componentes individuales.

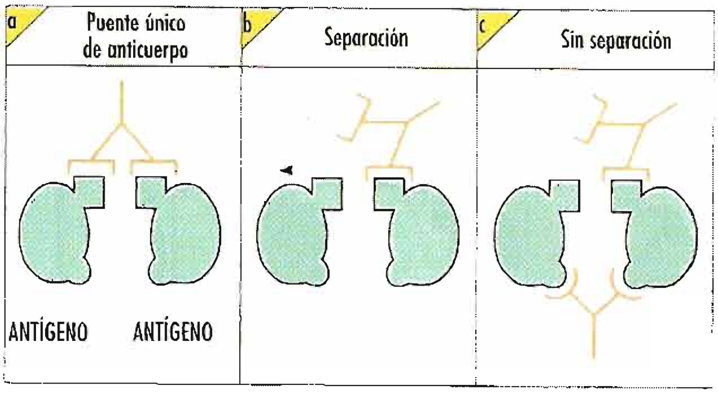


Fig. 5-12. Mecanismo del efecto bonificación. Cada unión antígeno-anticuerpo es reversible y, con un solo puente de anticuerpo entre dos moléculas de antígeno (**a**), la disociación de cualquiera de las uniones posibilitaría a una molécula de antígeno a "escapar" como en (**b**). Si hay dos puentes de anticuerpos, aunque uno se disocie el otro impide que se escape la molécula de antígeno y lo mantiene en posición listo para reformar la unión rota (**c**). En efecto, la orientación de la unión rota aumenta en gran medida la concentración de combinación efectiva del anticuerpo y por eso acelera la velocidad de la reacción de asociación: $V_a = k_a[\text{Ag}][\text{Ac}\uparrow]$.

a un solo determinante antigénico, en la mayoría de las circunstancias prácticas nos preocupamos por la interacción de un antisuero (es decir, el suero proveniente de un individuo inmunizado) con un antígeno multivalente. El término empleado para expresar esta unión es la **avidez** o **afinidad funcional**.

Los factores que contribuyen con la avidez son complicados e incluyen la heterogeneidad de los anticuerpos en un suero dado que están dirigidos contra cada determinante en el antígeno y la heterogeneidad de los determinantes en sí (figs. 5-4 y 5-10). Pero aún debe considerarse un factor adicional. La multivalencia de la mayoría de los antígenos conduce a un interesante efecto de **bonificación** en el que la unión del antígeno al anticuerpo por numerosos eslabones siempre es mayor, por lo común varias veces superior, que la suma aritmética de las uniones de anticuerpos individuales. Esto se ilustra en la figura 5-11. El mecanismo de este efecto puede interpretarse si se considera una analogía. Permítanos suponer una enfermedad desconocida en la que no podemos detener nuestra apertura y cierre continuos de las manos. Si intentamos sostener un objeto en una mano, se caerá en el momento en que la abrimos. Sin embargo, si utilizamos ambas manos para sostener el objeto, siempre que abramos y cerremos nuestras manos en momentos diferentes, hay muchas menos oportunidades para la caída del objeto. La combinación reversible del antígeno y del anticuerpo es como la apertura y el cierre de las manos; cuanto más valencias sostienen el antígeno, menos probable es que se pierda cuando se disocia el complejo en cualquier sitio de unión (fig. 5-12).

Las mismas consideraciones se aplican a la unión del anticuerpo a un antígeno polimérico con determinantes repetitivos, como la ovoalbúmina sustituida por varios grupos DNP o la mayoría de los polisacáridos bacterianos o glóbulos rojos con determinantes de grupo sanguíneo repetitivos. A medida que pasamos de un fragmento Fab univalente a una IgG divalente a una IgM pentamérica, el efecto de bonificación de multivalencia produce aumentos llamativos en la intensidad de la formación de los complejos antígeno-anticuerpo.

La avidez, que es una medida de la afinidad funcional de un antisuero para el antígeno completo, es de relevancia evidente en la reacción con el antígeno en el organismo. La alta avidez es superior a la

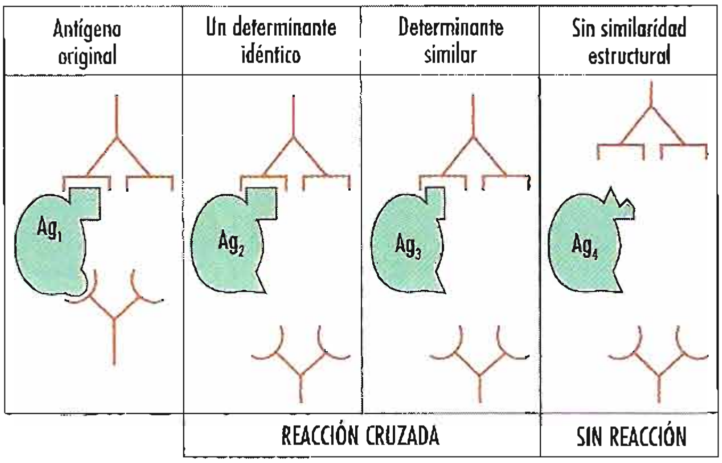


Fig. 5-13. Especificidad y reacción cruzada. Avidez de los anticuerpos séricos ( ]—[y)—( ) para Ag$_1$ > Ag$_2$ > Ag$_3$> Ag$_4$.

baja para una amplia variedad de funciones in vivo, por ejemplo, eliminación inmune del antígeno, neutralización de virus, papel protector contra las bacterias y así sucesivamente.

LA ESPECIFICIDAD DEL RECONOCIMIENTO DEL ANTÍGENO POR EL ANTICUERPO NO ES ABSOLUTA

La capacidad de los anticuerpos para discriminar entre los diferentes antígenos se ilustró bien en la variación de la reactividad de un anti-hapteno para una serie de moléculas relacionadas desde el punto de vista estructural, como se describe en el cuadro 5-1. Dado que la intensidad de la reacción puede cuantificarse por la afinidad o la avidez, relacionaríamos la **especificidad** de un antisuero con su avidez relativa por los antígenos para los que están siendo discriminados.

Al reconocer que un antisuero puede tener una avidez relativamente mayor por un antígeno que por otro, indicamos que el antisuero despliega una especificidad relativa más que absoluta; en la práctica se habla de grados de **reactividad cruzada**. Un antisuero elaborado contra un antígeno dado puede reaccionar en forma cruzada con un antígeno parcialmente relacionado que posee uno o más determinantes idénticos o similares. En la figura 5-13 puede verse que un antisuero contra un antígeno$_1$ (Ag$_1$) reaccionará de modo menos intenso con un Ag$_2$ que posee sólo un determinante idéntico, debido a que sólo ciertos anticuerpos en el suero pueden unirse. El Ag$_3$, que posee un determinante similar pero no idéntico, no encajará tan bien con el anticuerpo y la unión es aun más débil. El Ag$_4$, que no tiene nada de similitud estructural, no reaccionará de modo significativo con el anticuerpo. Por esto, sobre la base de consideraciones estereoquímicas, podemos observar por qué la avidez del antisuero para el Ag$_2$ y Ag$_3$ es menor que para el antígeno homólogo, mientras que es despreciable para el Ag$_4$ no relacionado. Sería bueno describir el antisuero como muy específico para el Ag$_1$ respecto del Ag$_4$, pero que reacciona en forma cruzada con Ag$_2$ y Ag$_3$ en diferente medida.

Al dirigirse contra epítopos únicos en el antígeno, los anticuerpos monoclonales muestran con frecuencia alta especificidad en lo que respecta a su baja reactividad cruzada con otros antígenos. Sin embargo, en ocasiones se observa una unión bastante inesperada con antígenos con los que reaccionan de manera deficiente, si lo hacen, con un antisuero específico. Es un ejercicio instructivo observar cómo es que un antisuero policlonal, que contiene una colección heterogénea de anticuerpos, puede ser más específico para discriminar entre dos antígenos que un anticuerpo monoclonal. Las seis regiones hipervariables de un anticuerpo abarcan un área molecular relativamente grande compuesta por cadenas laterales de aminoácidos muy diversos, y es evidente que una cantidad de diferentes estructuras epitópicas podría encajar en distintas partes de este "terreno" hipervariable, aunque con un espectro de afinidades de combinación.

Así, cada anticuerpo no sólo reaccionará con el antígeno que estimuló su producción, sino también con algunas moléculas posiblemente muy poco relacionadas. La figura 5-14 explica (es lo que esperamos) cómo puede traducirse esto en una especificidad más alta para el suero policlonal.

LO QUE PERCIBE LA CÉLULA T

En varias ocasiones hicimos referencia que el receptor de las células T ve al antígeno en la superficie de las células asociado con una molécula clase I o II del CMH. Ahora es el momento de profundizar en esta relación.

La restricción del haplotipo revela la necesidad de la participación del CMH

Se estableció en lápidas de piedra que las células T que poseen receptores $\alpha\beta$, con algunas excepciones (véase pág. 111), sólo responden cuando las células presentadoras de antígeno expresan el mismo

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA
Facultad de Ciencias Médicas
BIBLIOTECA

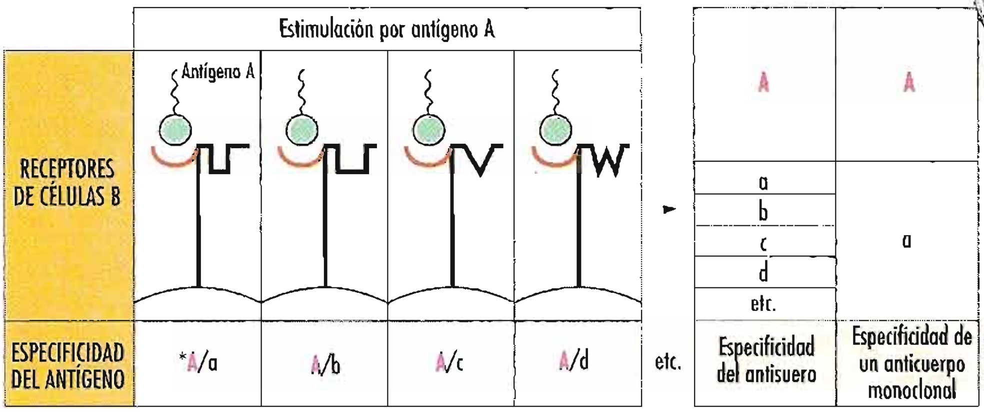

Estimulación por antígeno A
Antígeno A
RECEPTORES DE CÉLULAS B
W
ESPECIFICIDAD DEL ANTÍGENO
*A/a
A/b
A/c
A/d
etc.
A
A
a
b
c
d
etc.
a
Especificidad del antisuero
Especificidad de un anticuerpo monoclonal

Fig. 5-14. La especificidad de un antisuero deriva de la reactividad común al componente anticuerpos. El antígeno A estimula a los linfocitos cuyos receptores polifuncionales se unen a A, pero también podría unirse a otros determinantes como está indicado (letras minúsculas). Todos los anticuerpos en el antisuero tendrían anti-A como especificidad común, pero las otras especificidades serán tan diversas que ninguno de ellos alcanzará concentraciones apreciables para dar reacciones cruzadas significativas con otro antígeno que posea a, b, etc., es decir, el antisuero muestra especificidad para A. Por otro lado, un anticuerpo monoclonal no puede diluir su especificidad alternativa y así en el ejemplo mostrado con un asterisco habría reacción cruzada más intensa con un antígeno a no correlacionado. (Con agradecimiento a Talmage D.W. *Science* 1959; **129**:1643.)

haplotipo del CMH que el huésped a partir del cual derivaron las células T (hito 5-1). Esta **restricción por el haplotipo** en el reconocimiento de las células T indica sin equivocaciones que las moléculas del CMH están involucradas de manera íntima y necesaria en la interacción del antígeno con la célula que lo porta con su linfocito T específico para el antígeno correspondiente. También aprendimos que, en términos generales, las células T citotóxicas reconocen el antígeno en el contexto de las moléculas clase I del CMH, y las células T helper que interactúan con los macrófagos responden cuando el antígeno se asocia con las moléculas clase II.

Si entonces aceptamos la participación del CMH en el reconocimiento de las células T, ¿qué ocurre con el antígeno? Durante algún tiempo nos dejó perplejos que, en muchos sistemas, los anticuerpos originados por un antígeno nativo fallaban en bloquear la citotoxicidad (véase fig. H5-1-1b), a pesar del éxito sistemático con los sueros anti-moléculas clase I del CMH. En el presente sabemos por qué.

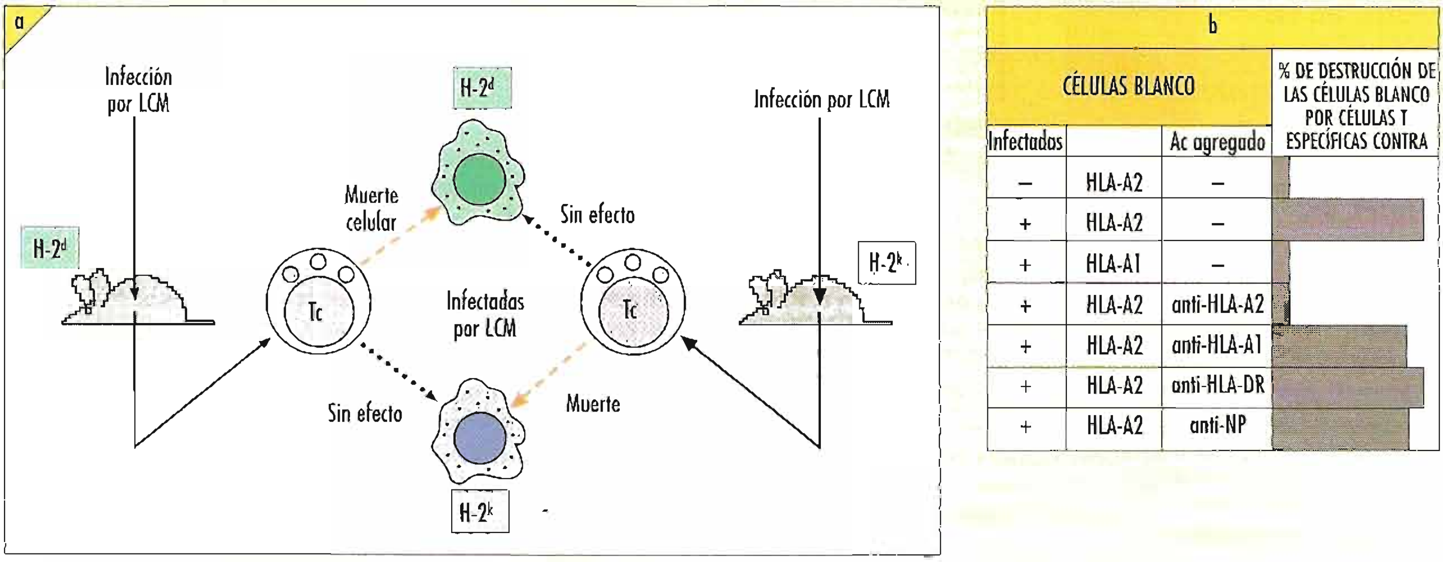
Las células T reconocen una secuencia peptídica lineal del antígeno

En el hito 5-1, se comentaron los experimentos que involucran a las células T específicas contra las nucleoproteínas del virus influenza, que podrían matar las células infectadas por el virus de la influenza. La muerte se produce después de que las células T citotóxicas se adhieren con firmeza con su blanco a través del reconocimiento de moléculas específicas de superficie. Es curioso entonces que la nucleoproteína, que carece de una secuencia de señal o región transmembrana y, por lo tanto, no puede expresarse en la superficie celular, pueda no obstante funcionar como blanco para las células T citotóxicas, en particular porque ya destacamos que los anticuerpos contra la nucleoproteína nativa no influyen en la reacción de destrucción (fig. H5-1.1b). Además, las células no infectadas no se convierten en blancos para las células T citotóxicas cuando se agrega nucleoproteína entera al sistema de cultivo. Sin embargo, si, en cambio, agregamos una serie de péptidos cortos con secuencias derivadas de la estructura primaria de la nucleoproteína, las células no infectadas pueden transformarse en susceptibles al ataque citolítico de las células T (fig. 5-15).

¡Así se reveló el secreto! La realidad sorprendente es que las células T reconocen péptidos lineales derivados del antígeno, y ésta es la razón por la que los anticuerpos elaborados contra la nucleoproteína en su conformación nativa tridimensional (véase fig. 5-2) no inhiben la muerte celular. Nótese que sólo ciertos péptidos de la nucleoproteína fueron reconocidos por las células T policlonales en la población del donante y éstos se consideran epítopos de las células T. Cuando clones de idéntica especificidad derivan de estas células T, cada clon sólo reacciona con uno de los péptidos; en otras palabras, al igual que con los clones de células B, cada clon es específico para un epítopo correspondiente.

Se obtienen por completo resultados análogos cuando los clones de células *T-helper* son estimulados por células presentadoras de antígenos a las que se les agregaron ciertos péptidos derivados del antígeno original. De nuevo, mediante la síntesis de

Hito 5-1. Restricción de la reactividad de las células T por el CMH


a
Infección por LCM
H-2d
H-2d
Muerte celular
Sin efecto
Tc
Infectadas por LCM
Tc
Sin efecto
Muerte
H-2k
Infección por LCM
H-2k
b

CÉLULAS BLANCO			% DE DESTRUCCIÓN DE LAS CÉLULAS BLANCO POR CÉLULAS T ESPECÍFICAS CONTRA
Infectados		Ac agregado	
–	HLA-A2	–	
+	HLA-A2	–	
+	HLA-A1	–	
+	HLA-A2	anti-HLA-A2	
+	HLA-A2	anti-HLA-A1	
+	HLA-A2	anti-HLA-DR	
+	HLA-A2	anti-NP	

Fig. H5-1.1. La destrucción de las células T está restringida por el haplotipo del CMH de las células blanco infectadas por virus. **a)** Destrucción restringida por el haplotipo de células blanco infectadas con el virus de la coriomeningitis linfocítica (LCM) producida por las células T citotóxicas. Las células killer provenientes de huéspedes H-2^d sólo destruyen blancos infectados H-2^d, no los de haplotipo H-2^k y viceversa. **b)** Destrucción de células blanco infectadas por influenza por células T específicas para nucleoproteína (NP) de influenza provenientes de un donante HLA-A2 (véase pág. 408 para la nomenclatura del CMH de seres humanos). La destrucción estaba restringida a las células blanco HLA-A2 y sólo inhibidas por anticuerpos contra A2, no contra A1, ni contra las moléculas clase II del armazón HLA-DR, o el antígeno NP nativo.

El hecho de que el CMH, que en un tiempo figuró como un elemento de control dominante en el rechazo de injerto de tejidos y vendría a ocupar el estadio central en las reacciones de las células T ha sido una fuente de fascinación y gran placer para los inmunólogos, casi, como si lentamente se hubiese desplegado un gran plan universal.

Una de las observaciones fundamentales que ayudaron a elevar al CMH a esta posición señorial fue la espectacular revelación de Doherty y Zinkernagel, que les mereció el premio Nobel, acerca de que las células T citotóxicas tomadas de un individuo en etapa de recuperación de una infección viral sólo destruirán las células infectadas por virus que comparten un haplotipo del CMH con el huésped. Estos investigadores encontraron que las células T citotóxicas provenientes de ratones con el haplotipo H-2^d infectadas por el virus de la coriomeningitis linfocítica podían destruir las células infectadas por virus provenientes de cualquier cepa H-2^d, pero no las células con haplotipo H-2^k u otro haplotipo H-2. El experimento recíproco con ratones H-2^k muestra que esto no es sólo una propiedad especial asociada con H2^d (fig. H5-1.1a). Los estudios con cepas recombinantes (véase cuadro 4-2) señalaron a las moléculas clase I del CMH como el elemento de restricción y esto se confirmó al demostrar que los anticuerpos contra estas moléculas clase I del CMH bloquean la reacción de destrucción celular.

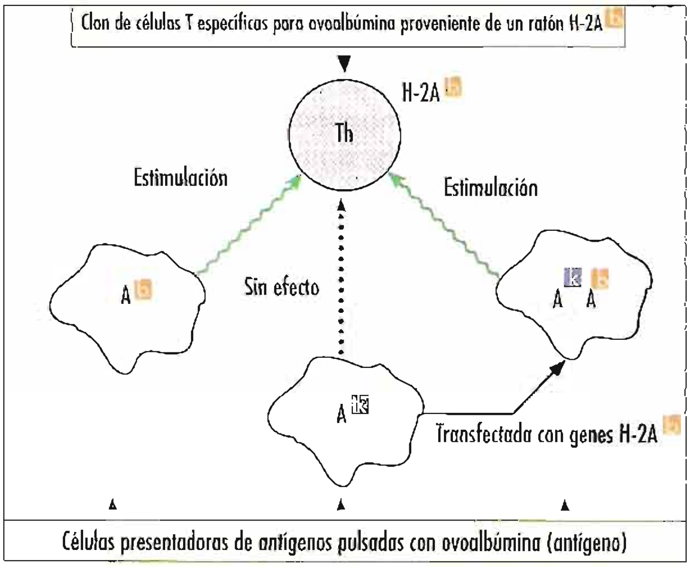

Clon de células T específicas para ovoalbúmina proveniente de un ratón H-2A
H-2A
Th
Estimulación
Estimulación
Sin efecto
A
A
A
A
Transfectada con genes H-2A
Células presentadoras de antígenos pulsadas con ovoalbúmina (antígeno)

Fig. H5-1.2. El clon de células T sólo responde con proliferación in vitro cuando las células presentadoras de antígenos (p. ej., macrófagos) pulsadas con ovoalbúmina expresan las mismas moléculas clase II del CMH.

El mismo fenómeno se observó en reiteradas ocasiones en los seres humanos. Los individuos HLA-A2 que se recuperan de influenza poseen células T que matan las células blanco HLA-A2 infectadas por el virus influenza, pero no en células de una especificidad de tipo de tejido HLA diferente (fig. M5-1.1b). Nótese cómo la citotoxicidad podría inhibirse por antisuero específico para el donante tipo HLA-A, pero no por el antisuero para la forma alélica HLA-A1 o el marco clase II del HLA-DR. De llamativa importancia es la incapacidad de los anticuerpos contra la nucleoproteína para bloquear el reconocimiento de las células T, aun cuando se conocía en estos estudios que la especificidad de las células T se dirigía hacia este antígeno. Dado que los anticuerpos reaccionan con la nucleoproteína en su forma nativa, la estructura del antígeno presentado a la célula T debe ser bastante diferente.

Al mismo tiempo, una serie comparable de experimentos estableció el papel de moléculas de la clase II del CMH en la presentación del antígeno a las células T helper. En un comienzo, Shevach y Rosenthal demostraron que la proliferación de linfocitos contra el antígeno in vitro podía bloquearse mediante la elaboración de antisueros entre dos cepas de cobayos que habrían incluido anticuerpos contra el CMH de los linfocitos respondedores. La evidencia más severa proviene del tipo de experimento en el que un clon proliferante de células T como respuesta a la ovoalbúmina en células presentadoras de antígenos con fenotipo H-2A^b no responde si el antígeno se presenta en el contexto del H-2A^k. Sin embargo, si la células presentadoras de antígenos H-2A^k son transfectadas con los genes que codifican H-2A^b, entonces ahora se comunican de manera eficaz con las células T (fig. M5-1.2).

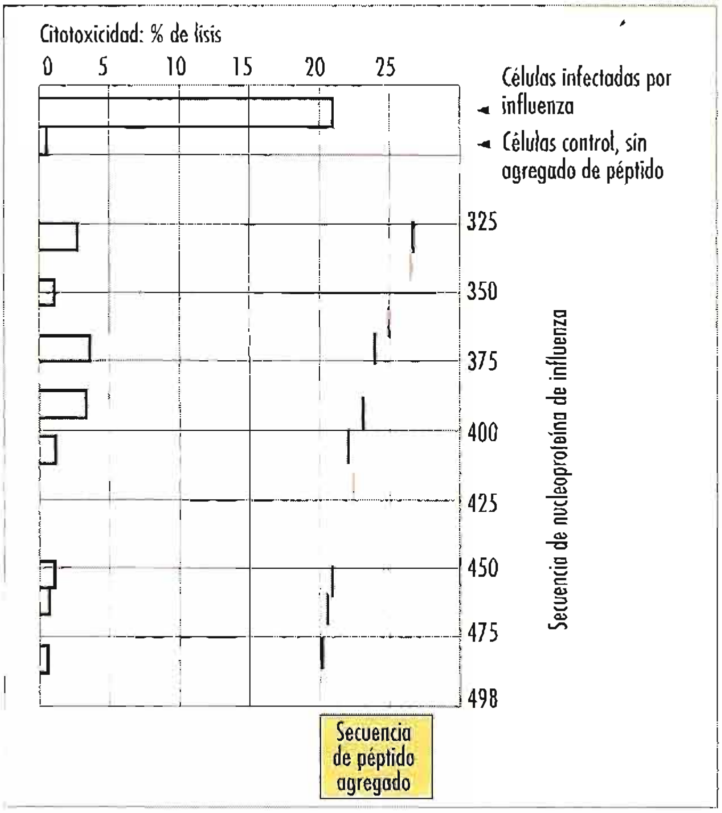


Fig. 5-15. **Células T citotóxicas, de un donante humano, mata las células blanco no infectadas en presencia de péptidos cortos de nucleoproteína de influenza.** Los péptidos indicados se agregaron a linfoblastos singeneicos (es decir, del mismo donante que las células T) activados con mitógenos y marcados con ^{51}Cr, y se evaluó la citotoxicidad por la liberación de ^{51}Cr con una relación células killer:células blanco de 50:1. Los tres péptidos indicados en rojo indujeron una buena destrucción. Los blastos infectados por virus influenza de una cepa diferente se utilizaron como control positivo. (Reproducido con autorización de Townsend ARM y col. *Cell* 1986; 44:959, con autorización. Copyright © 1986 por Cell Press.)

una serie de estos péptidos, el epítopo de las células T puede mapearse con cierta precisión.

La conclusión es que la **célula T reconoce tanto el CMH como el péptido** y en la actualidad sabemos que el péptido que actúa como epítopo de la célula T se ubica a lo largo de la ranura formada por las α-hélices y el piso de la lámina plegada β de los dominios clase I y clase II más externos (fig. 4-11). Pero, ¿cómo llega hasta ahí?

PROCESAMIENTO DEL ANTÍGENO INTRACELULAR PARA LA PRESENTACIÓN POR LA CLASE I DEL CMH

Dentro de las estructuras proteolíticas de escondite del citosol, los proteasomas son los que participan en el intercambio habitual y en la degradación celular de las proteínas (fig. 5-16). Las proteínas citosólicas destinadas a la presentación del antígeno, entre las que se incluyen las proteínas virales, se degradan a péptidos mediante una vía metabólica que involucra estas estructuras, si bien otras proteasas citosólicas, como leucina y aspartil aminopeptidasas, también pueden contribuir con este procesamiento del antígeno. Además de las proteínas residentes en el citosol, una proporción de proteínas unidas a la membrana y secretoras es transportada desde el retículo endoplasmático (RE) de nuevo al citosol por acción del complejo molecular SEC61, y estas proteínas pueden sufrir entonces también el procesamiento para la presentación de la clase I, co-

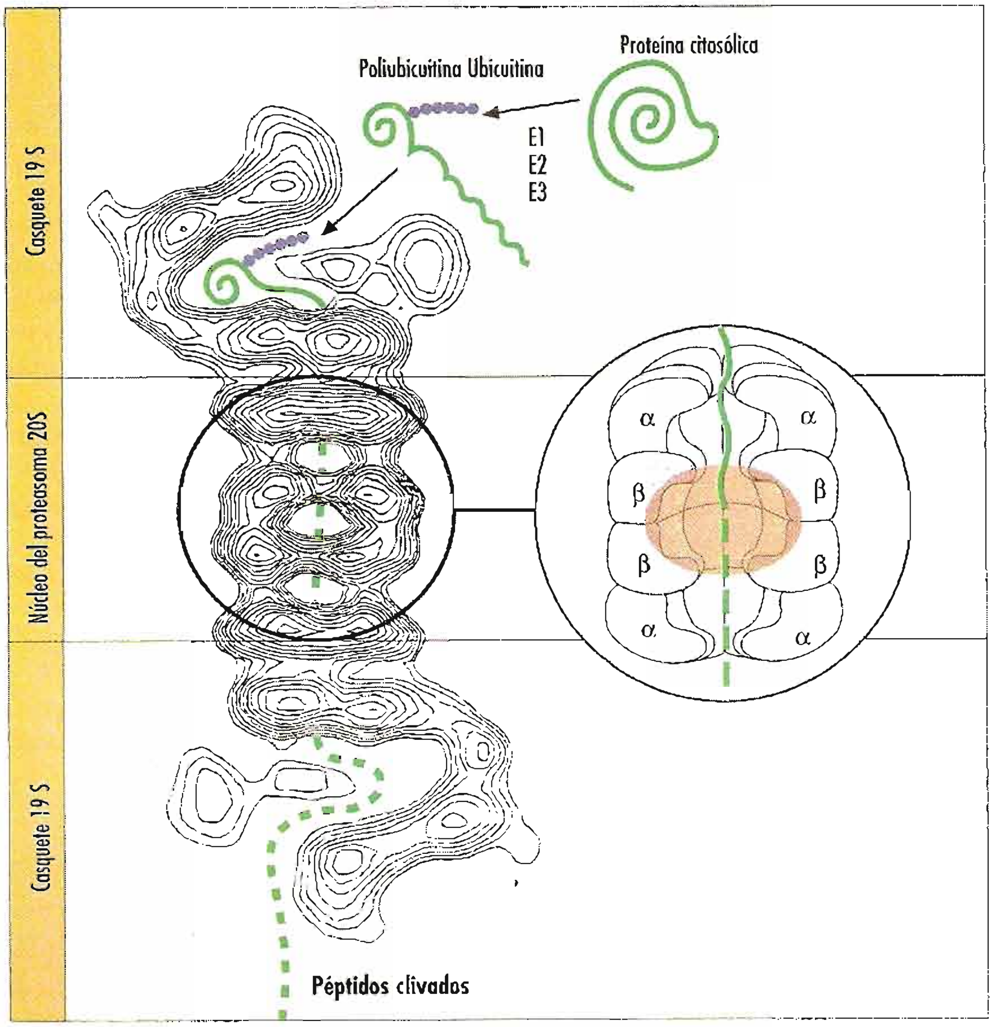


Fig. 5-16. Clivaje de las proteínas citosólicas por el proteasoma. Las proteínas citosólicas se convierten en poliubicuitinadas en una reacción en la que interviene el ATP en la que la enzima E1 forma un tioléster con el C-terminal de ubicuitina, y luego transfiere la ubicuitina a una de las 10-15 proteínas transportadoras de ubicuitina E2 diferentes. El C-terminal de la ubicuitina luego es conjugada por una de las doce enzimas proteína ligasa de ubicuitina E3 a un residuo de lisina en el polipéptido. En estos procesos hay especificidad con respecto a que las enzimas individuales E2 y E3 tienen preferencias por proteínas diferentes. La proteína citosólica ubicuitinada se une a un casquete que contiene ATPasa donde el ATP conduce la cadena de proteína no plegada a través de los canales de conducción, hidrófobos, de las subunidades α al interior de la cámara hidrolítica central donde se expone a una variedad de actividades proteolíticas asociadas con diferentes subunidades β. El proteasoma entero 26S, que es un complejo de 2.000 kDa compuesto por alrededor de 50 subunidades diferentes, que presenta un núcleo (core) de proteasoma 20S 650 kDa con casquetes reguladores gemelos 19S 700 kDa, se ilustra como un diagrama de contornos por estudios con microscopio electrónico y análisis de imagen. El núcleo del proteasoma es una estructura cilíndrica compuesta por 28 subunidades colocadas en cuatro anillos apilados. El corte transversal del proteasoma revela el sitio de actividad proteolítica (sombreado de rojo) dentro de los dos anillos centrales, cada uno comprende siete subunidades β homólogas pero distintas, tres de las cuales en cada anillo contienen sitios proteolíticos activos. Los dos anillos α externos están formados por siete subunidades α de nuevo homólogas pero distintas, pero en este caso todas carecen de actividad proteolítica. Interviene un novedoso mecanismo catalítico, en el que el residuo nucleofílico que ataca las uniones peptídicas es el grupo hidroxilo ubicado en el residuo N-terminal de treonina de las subunidades β. Tres actividades de peptidasa distintas se asociaron con subunidades β específicas. Una de ellas es "tipo quimiotripsina" en lo que se refiere a su actividad de hidrolizar los péptidos después de los residuos hidrófobos grandes, una es "tipo tripsina" y cliva después de residuos básicos, y una produce hidrólisis después de los residuos ácidos. Las moléculas asociadas al inmunoproteasoma LMP2, LMP7 y LMP10 (este último denominado con frecuencia MECL1; *multicatalytic endopeptidase complex like-1* –complejo multicatalítico de endopeptidasa tipo 1–) muestran especificidades similares pero presentan actividades incrementadas de quimiotripsina y tripsina, y reducido clivaje posacídico cuando se los compara con sus contrapartes destinados al manejo interno del proteasoma. (Basado en Peters JM, et al. *Journal of Molecular Biology* 1993; **234**:932 y Rubin DM, Finley D. *Current Biology* 1995; **5**:854.)

mo lo pueden realizar las proteínas provenientes de las mitocondrias. Antes del procesamiento, las proteínas se unen de manera covalente a diversas moléculas de ubicuitina en un proceso dependiente del ATP. La poliubicuitinación tiene como blancos los polipéptidos del proteosoma (fig. 5-16).

Sólo alrededor del 10% de los péptidos producidos por los proteasomas presentan la longitud ópti-

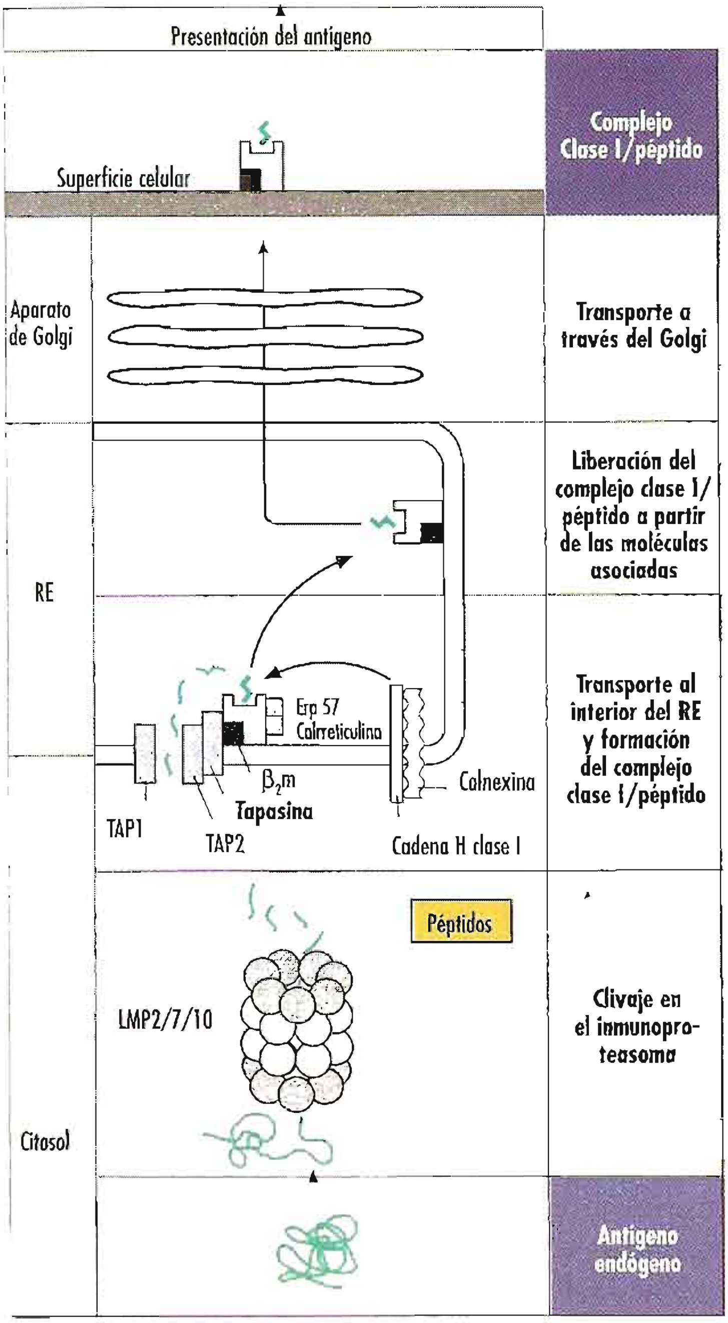

Presentación del antígeno
Superficie celular
Complejo Clase I/péptido
Aparato de Golgi
Transporte a través del Golgi
Liberación del complejo clase I/péptido a partir de las moléculas asociadas
RE
Erp 57
Calreticulina
β2m
Tapasina
Calnexina
TAP1
TAP2
Cadena H clase I
Transporte al interior del RE y formación del complejo clase I/péptido
Péptidos
LMP2/7/10
Clivaje en el inmunoproteasoma
Citosol
Antígeno endógeno

Fig. 5-17. **Procesamiento y presentación del antígeno endógeno por la clase I del CMH.** Las proteínas citosólicas son degradadas por el complejo proteasoma en péptidos, que son transportados al interior del retículo endoplasmático (RE). TAP1 y TAP2 son miembros de la familia ABC de las proteínas para el transporte dependientes del ATP, y, bajo la influencia de estos transportadores, los péptidos se cargan en la ranura de las moléculas clase I del CMH unidas a la membrana. El complejo péptido-CMH luego se libera de todos sus transportadores asociados y chaperonas, atraviesa el aparato de Golgi, y aparece en la superficie celular listo para la presentación a los receptores de las células T. Las células mutantes deficientes en TAP1/2 no entregan los péptidos a la clase I y no pueden funcionar como blancos para las células T citotóxicas. Sin embargo, si son transfectadas con un gen que codifica el péptido antigénico unido a una secuencia de señal pasible de ser clivada, el péptido se entrega al RE sin necesidad de TAP1/2 y las células pueden convertirse en blancos una vez más.

ma (octámeros o nonámeros) para encajar en la ranura de las moléculas de la clase I del CMH; es probable que cerca del 70% de los péptidos sea demasiado pequeño para funcionar en la presentación del antígeno; y el 20% remanente requeriría un arreglo o recorte adicional, por ejemplo, por las aminopeptidasas citosólicas. La citosina IFNγ aumenta la producción de tres subunidades proteasómicas catalíticas, las proteínas polimorfas de bajo peso molecular (low molecular weight proteins –LMP– LMP2 y LMP7, y la no polimórfica LMP10. Estas moléculas reemplazan las subunidades catalíticas homólogas (β_1, β_5 y β_2, respectivamente) en el manejo interno del proteasoma, para producir lo que se denominó **inmunoproteasoma**, un proceso que se piensa que modifica la especificidad del clivaje con el objeto de adaptar la producción del péptido para la unión con las moléculas clase I.

Los péptidos originados tanto en el proteasoma como en el inmunoproteasoma son traslocados al interior del RE por transportadores asociados con el procesamiento del antígeno (TAP1 y TAP2) (fig. 5-17), un proceso que también podría involucrar a los integrantes de la familia de proteínas del shock térmico. La cadena pesada clase I recientemente sintetizada se retiene en el RE por la calnexina chaperona molecular que se piensa que colabora en el plegamiento, la formación de puentes disulfuro y la estimulación del ensamble con la β_2-microglobulina. En los seres humanos, pero no en los ratones, la calnexina luego se reemplaza por la calrreticulina. La proteína residente en el RE, Erp57, que posee funciones de tiol reductasa, cisteína proteasa y chaperona (acompañante), se asocia con el complejo de calrreticulina-calnexina y la cadena pesada de la clase I, que ahora se pliega junto con la β_2-microglobulina. La molécula clase I vacía unida a estas chaperonas se une a TAP1/2 por tapasina. Con la carga peptídica, la molécula clase I puede disociarse de las numerosas moléculas accesorias, y el ahora complejo estable péptido-cadena pesada clase I-β_2-microglobulina atraviesa los sacos apilados del aparato de Golgi y alcanza la superficie, donde se convierte en un blanco estático para la célula T citotóxica.

PROCESAMIENTO DEL ANTÍGENO PARA LA PRESENTACIÓN POR LA CLASE II DEL CMH QUE SIGUE UNA VÍA DIFERENTE

Los complejos clase II del CMH con el péptido antigénico se generan por un mecanismo intracelular fundamentalmente diferente, ya que las células presentadoras del antígeno que interactúan con las células T helper necesitan probar el antígeno desde los compartimentos *extracelular* e *intracelular*. En esencia, una vesícula trans-Golgi que contiene clase II tiene que intersectar un endosoma tardío que contiene el antígeno proteico exógeno captado en el interior de la célula por un mecanismo endocítico.

Con respecto a las moléculas clase II en sí, están ensambladas a partir de una cadena α y β en el retículo endoplasmático en asociación con la **cadena invariante** (Ii) transmembrana (fig. 5-18) que posee varias funciones. En primer lugar actúa como acompañante dedicada (chaperona) para asegurar el plegamiento correcto de la molécula clase II naciente. En segundo lugar, una secuencia interna de la porción luminal de Ii se asienta en la ranura de CMH para inhibir la unión temprana de péptidos en el RE antes de que la molécula clase II llegue al compartimiento endocítico que contiene el antígeno. Además, la combinación de Ii con el heterodímero αβ clase II inactiva una señal de retención y permite el transporte al Golgi. Por último, los motivos en la región N-terminal citoplasmática de Ii aseguran la entrega de vesículas que contienen clase II para la vía endocítica.

Entretanto, la proteína exógena es captada por endocitosis y, como el endosoma temprano sufre una acidificación progresiva, es procesada en péptidos por las proteasas endosómicas, como asparaginil endopeptidasa. Es característico que los endosomas tardíos, que por último maduran a lisosomas, adquieran proteínas de membrana asociadas con los lisosomas (LAMP), si bien la función de estas moléculas aún no es clara. Estos endosomas tardíos se fusionan con la vacuola que contiene el complejo clase II-Ii. En el medio ácido presente dentro de estos compartimientos enriquecidos con la clase II del CMH (MIIC del inglés MHC class II-enriched compartments), las proteasas degradan Ii, excepto en la parte que se asienta en la ranura del CMH que, de momento, permanece allí como un péptido denominado CLIP (del inglés *cl*ass II-associated *i*nvariant chain *p*eptide; péptido de cadena invariante asociado con la clase II). Luego, una molécula dimérica relacionada con el CMH, DM, cataliza la eliminación de CLIP y mantiene la ranura abierta para que los péptidos generados en el endosoma puedan insertarse (fig. 5-19). Este proceso puede recibir ayuda de los integrantes de la familia hsp70 que sin

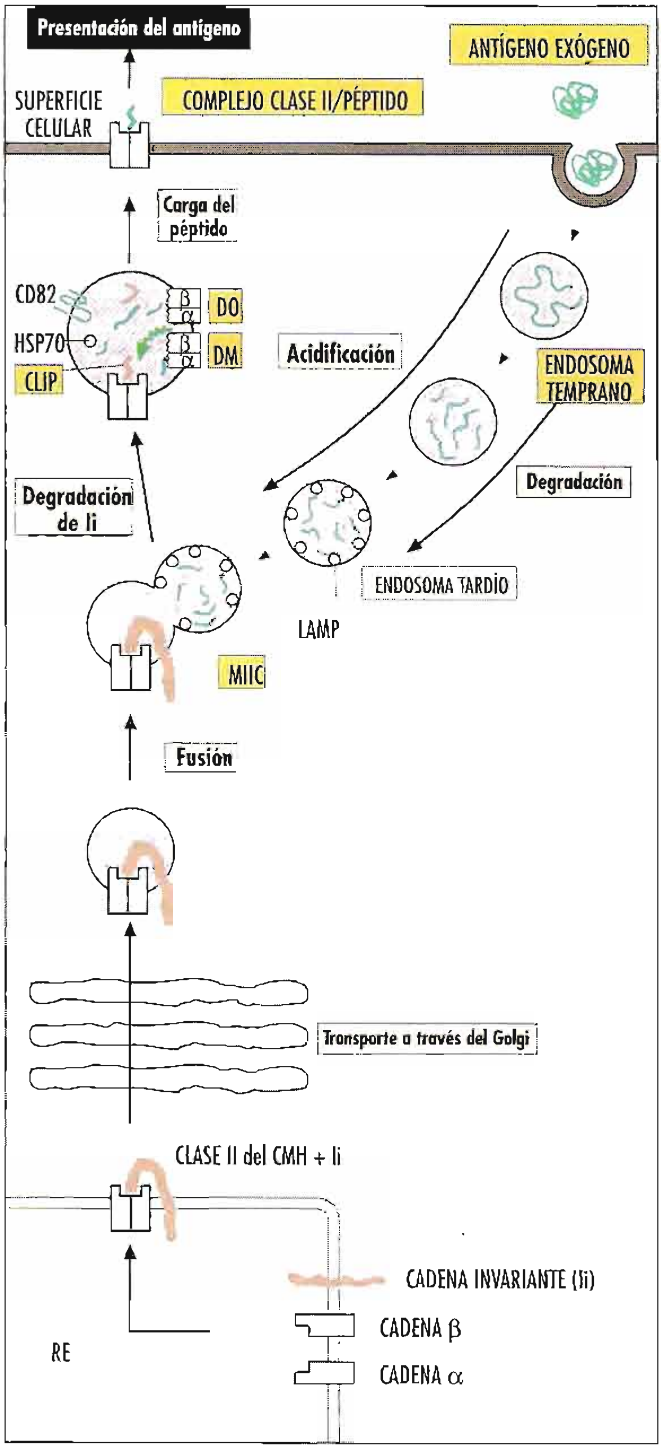
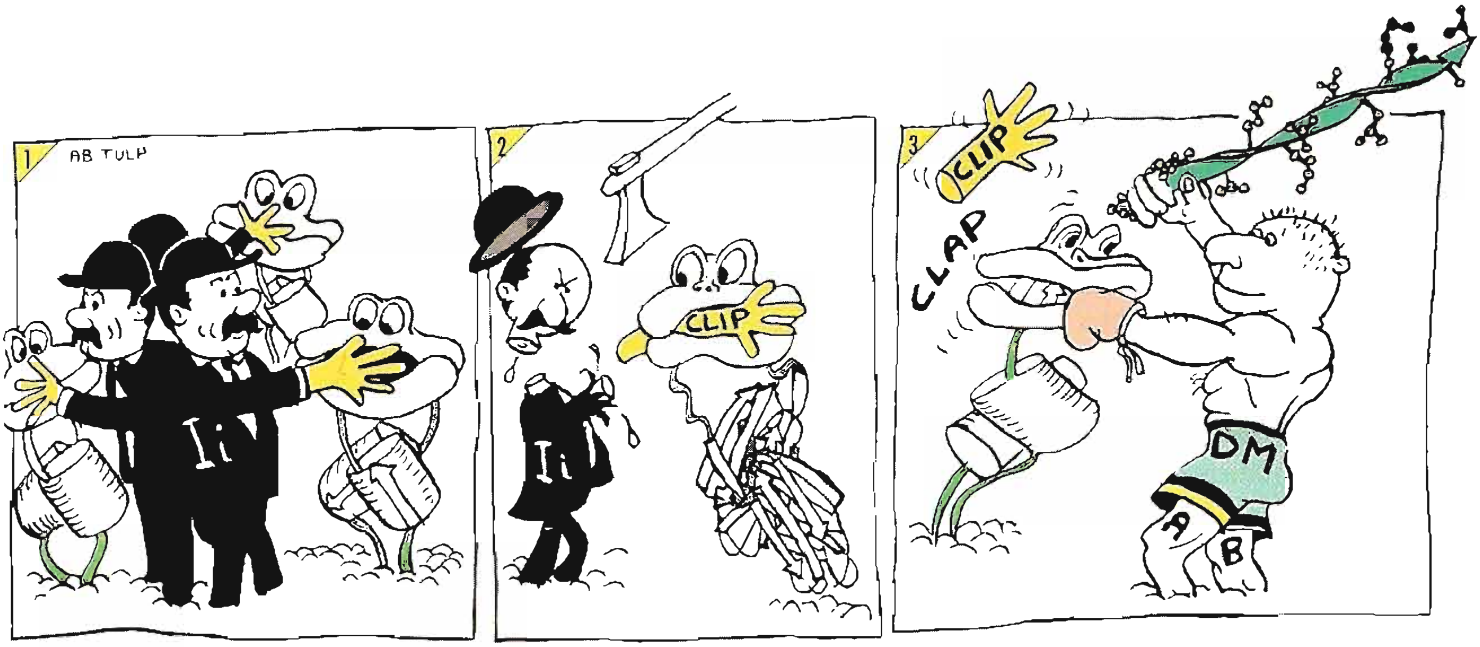


Fig. 5-18. Procesamiento y presentación del antígeno exógeno por la clase II del CMH. Las moléculas clase II con Ii se ensamblan en el retículo endoplasmático (RE) y se transportan a través del Golgi al retículo trans-Golgi (en realidad como un nonámero que presenta tres cadenas invariantes, tres α y tres β –que no se muestran–). Allí se ordenan en una vesícula endosómica tardía con las características lisosómicas conocidas como MIIC (del inglés MHC class II –enriched compartment–, que significa compartimiento enriquecido en clase II del CMH) que contiene proteína parcialmente degradada proveniente de la captación endocítica del antígeno exógeno. La degradación de la cadena invariante deja en la ranura el CLIP (péptido de la cadena invariante asociado a la clase II) pero, bajo la influencia de la molécula DM, es reemplazado por otros péptidos en la vesícula que incluyen los derivados del antígeno exógeno, y luego los complejos son transportados a la superficie de la célula para su presentación a las células T helper. Esta versión de acontecimientos se sustenta por el hallazgo de altas concentraciones de cadena invariante de CLIP asociado con clase II en las vacuolas MIIC de los ratones mutantes deficientes en DM, que son malos presentadores de antígeno a las células T.



Transporte del heterononámero CMHII/cadena invariante Ii.

Degradación de Ii en MIIC

Reemplazo del CLIP por el péptido antigénico catalizado por DM

Fig. 5-19. **Transporte de las moléculas clase II del CMH y carga del péptido.** Ilustrado por la caricatura algo vulgar de Tulp. (Reproducido de Benham A et al. *Immunology Today* 1995; **16**:361, con autorización de los autores y Elsevier Science, Ltd.)

distinción se unen a los péptidos no plegados. La unión peptídica inicial está determinada por la concentración del péptido y su velocidad de unión, pero DM puede ayudar con posterioridad a la eliminación de los péptidos de menor afinidad para permitir su reemplazo por los péptidos de alta afinidad; es decir, actúa como un péptido editor que permite la incorporación de péptidos con características de unión más estables, a saber aquellos con una lenta velocidad de separación. En las células B en particular una molécula relacionada con el CMH adicional, DO, se asocia con la DM unida a la clase II y modifica su función de un modo dependiente del pH. Su efecto puede ser favorecer la presentación de los antígenos internalizados por medio de BCR, más que los captados por endocitosis en fase líquida. El integrante CD82 de la familia tetraspanina también está presente en el MIIC, aunque en la actualidad su papel es incierto. Por último, los complejos clase II-péptido se transportan a la membrana para su presentación a las células T helper.

Así, en general los antígenos proteicos endógenos se procesan para la presentación por clase I, mientras que los antígenos proteicos exógenos, por la clase II. Sin embargo, el procesamiento de antígenos para la presentación por la clase II no está confinado a las proteínas solubles captadas del exterior, sino que también puede abarcar microorganismos cuyos antígenos alcanzan las estructuras lisosómicas, ya sea después de una fagocitosis directa o de la cohabitación intracelular prolongada. Las proteínas y los péptidos dentro del RE también son posibles clientes para las moléculas clase II de la ranura, y también podrían emprender la travesía al MIIC. Al contrario, las respuestas restringidas por la clase I pueden generarse contra antígenos exógenos, un proceso a veces denominado **sensibilización cruzada** (cross-priming). Esto puede ocurrir ya sea por un mecanismo dependiente del TAP en las células fagocíticas donde las proteínas se transfieren desde el fagosoma al citosol o por endocitosis de las moléculas clase I del CMH de la superficie celular, que luego llegan a los compartimientos enriquecidos con clase II, donde se produce el intercambio peptídico con secuencias provenientes del mecanismo de procesamiento endocítico.

NATURALEZA DEL PÉPTIDO DE LA "RANURA"

Las ranuras del CMH imponen algunas restricciones bien definidas en cuanto a la naturaleza y la longitud de los péptidos que pueden acomodar, y el modelo varía con los diferentes alelos del CMH. Por otra parte, en la mayoría de las posiciones del ligando peptídico se permite un grado sorprendente de redundancia y esto se relaciona en parte con los residuos que interactúan con el receptor de las células T más que con el CMH.

Unión a la clase I del CMH

El análisis con rayos X revela que los péptidos quedan montados de manera hermética a lo largo de la longitud de la ranura en una configuración extendida, sin espacio libre para las estructuras α-helicoidales (fig. 5-20). Los extremos N-terminal y C-terminal están unidos con firmeza por puentes H a los residuos conservados en cada extremo de la ranura, con independencia del alelo del CMH.

Los péptidos que aparecen de modo natural pueden extraerse de las moléculas clase I del CMH y someterse a análisis para establecer sus secuencias. De manera predominante poseen 8-9 residuos de longitud; los péptidos más largos hacen protrusión hacia afuera del surco. El análisis de las secuencias de mezclas peptídicas por lo común brinda señales intensas de aminoácidos en ciertas posiciones importantes (cuadro 5-2). Éstas se denominan **posiciones de anclaje** y representan las cadenas laterales del aminoácido preferido que encajan dentro de sacos específicos para el alelo en la ranura del CMH (fig. 5-21a). Por lo común hay dos, a veces tres, posiciones de anclajes principales para los péptidos de unión a la clase I, una en el extremo C-terminal y la otra con frecuencia en la posición 2 (P2), pero también pueden presentar en P3, P5 o P7. A veces, un saco de anclaje principal puede reemplazarse por dos o tres sacos de unión más débiles. Incluso con la desventaja de tener dos o tres motivos de anclaje, cada alelo de clase I del CMH puede acomodar un número considerable de péptidos diferentes.

Excepto en el caso de infección viral, los ligandos naturales de clase I serán péptidos propios derivados de las proteínas sintetizadas de manera endógena por la célula, histonas, proteínas del shock térmico, enzimas, secuencias de señal guía, y así sucesivamente. Alrededor del 75% de estos péptidos se origina en el citosol (fig. 5-22) y la mayoría será poco abundante, entre 100-400 copias por célula. Así, las proteínas expresadas con una abundancia poco habitual, como las oncofetales en los tumores y los antígenos virales en las células infectadas, debieran ser detectadas con facilidad por las células T en reposo.

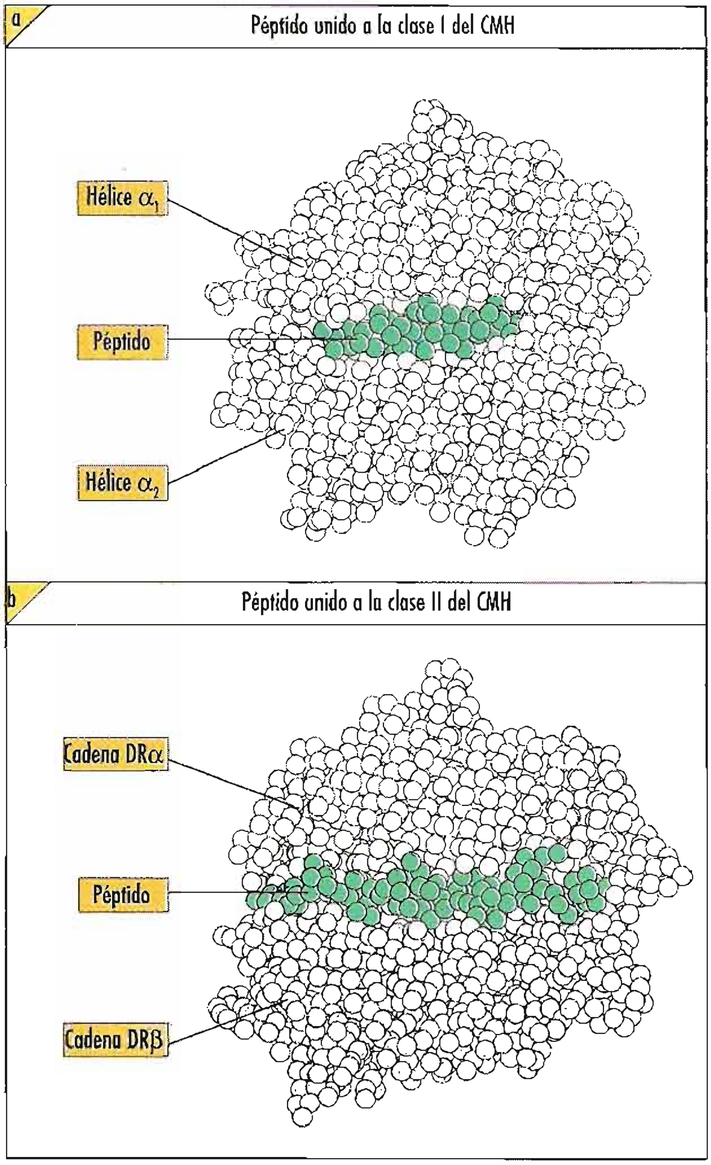


Fig. 5-20. Unión de los péptidos a la ranura de la molécula del CMH. Vista desde el receptor de la célula T, que permite apreciar de frente las α-hélices que recubren el surco (véase fig. 4.11b), representado en modelos que rellenan los espacios. **a)** Péptido 309-317 de la transcriptasa inversa del HIV-1 unido con firmeza dentro del surco de la clase I HLA-A2. En general, una a cuatro de las cadenas laterales del péptido apunta hacia el TCR, lo que da una accesibilidad al solvente del 17-27%. **b)** Hemaglutinina 306-318 de influenza que yace en el surco HLA-DR1 de la clase II. Al contrario de lo que ocurre con la clase 1, el péptido se extiende por fuera de ambos extremos de la ranura de unión y de cuatro a seis de un promedio de 13 cadenas laterales apuntan hacia el TCR, lo que incrementa la accesibilidad al solvente a un 35%. (Basado en Vignali DAA & Strominger JL *The Immunologist* 1994; **2**:112, con autorización de los autores y los editores.)

Unión a la clase II del CMH

A diferencia de lo que sucede con la clase I, donde la unión H independiente del alelo al péptido está centrada en los extremos N y C terminales, los residuos de la clase II de la ranura se unen al H a lo largo de toda la longitud del péptido con eslabones a los átomos que forman la cadena principal. Con respecto a los sacos de unión específicos del alelo clase II para la cadena lateral del péptido, los motivos basados en los tres o cuatro residuos de anclaje principales parecen estar a la orden del día (fig. 5-21b). Los sacos de unión secundarios, con la menor preferencia estricta por cadenas laterales individuales pueden aun modi-

Cuadro 5-2. *Los ligandos peptídicos naturales para la clase I del CMH contienen dos residuos de anclaje específicos del alelo. (Basado en Rammensee HG, Friede T, Stevanovic S. Immunogenetics 1995; 41, 178.) Las letras representan el código de Dayhoff para los aminoácidos; donde más de un residuo predomina en una posición dada, se dan alternativas; • = cualquier residuo.*

Alelo Clase I	Posición del aminoácido 1	2	3	4	5	6	7	8	9
H-2K^d	•	Y	•	•	•	•	•	•	I/L
H-2K^b	•	•	•	•	Y/F	•	•	L/M	
H-2D^b	•	•	•	•	N	•	•	•	L/M/I
HLA-A*0201	•	L/M/I	•	•	•	•	•	•	L/V/I/M
HLA-B*2705	•	R	•	•	•	•	•	•	R/K/L/F

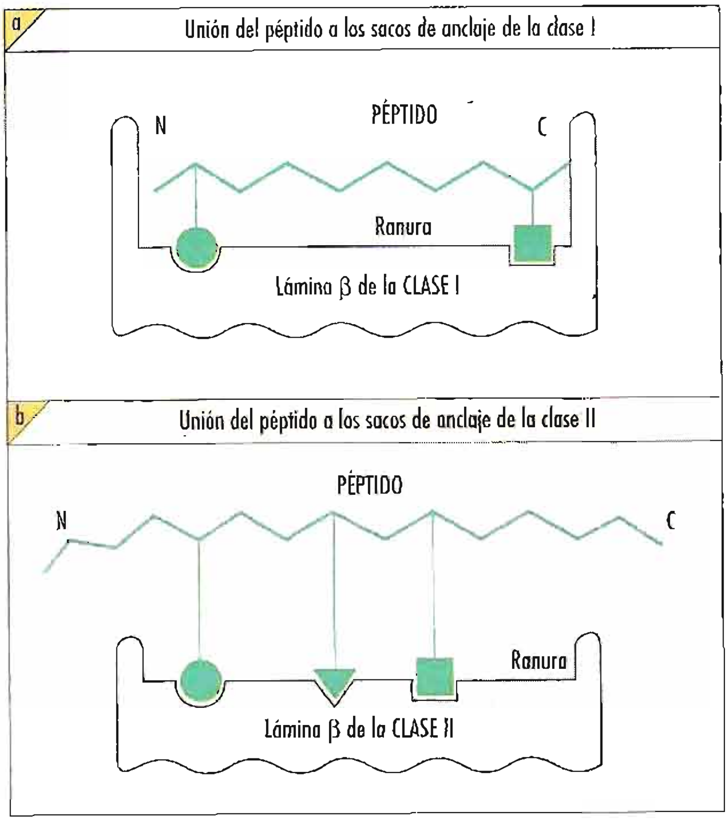

a
Unión del péptido a los sacos de anclaje de la clase I
N
PÉPTIDO
C
Ranura
Lámina β de la CLASE I
b
Unión del péptido a los sacos de anclaje de la clase II
PÉPTIDO
N
C
Ranura
Lámina β de la CLASE II

Fig. 5-21. Los sacos específicos de los alelos en las ranuras de unión al CMH se unen a los motivos de los principales residuos de anclaje de los ligandos peptídicos. Corte transversal a través del eje longitudinal de la ranura del CMH. Las dos α-hélices que forman las paredes laterales de la ranura se ubican por arriba y por debajo del plano del papel. **a)** La ranura de la molécula clase I está cerrada en ambos extremos. El anclaje del carboxilo terminal es invariante pero el segundo anclaje en P2 también puede estar en P3, P5 o P7, de acuerdo con el alelo del CMH (véase cuadro 5-2). **b)** Por el contrario, la ranura clase II está abierta en los extremos y no restringe la longitud del péptido. Por lo común hay tres sacos de anclaje principales en P1, P4, P6, P7 o P9, de los cuales el más importante se encuentra en P1.

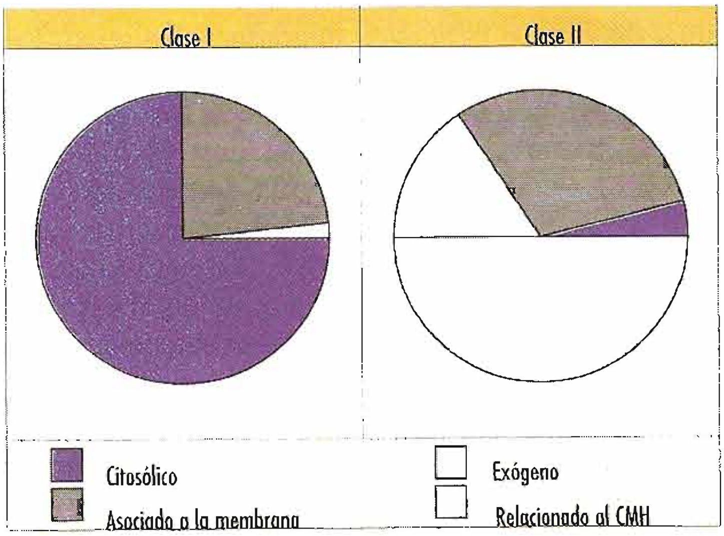


Fig. 5-22. Los orígenes de los péptidos unidos a la clase I y a la clase II. Prácticamente todos los péptidos de la clase I derivan de las proteínas endógenas e, incluso después de las infecciones virales, son los antígenos intracelulares, que se procesan. El procesamiento en los compartimientos endosómicos asegura que las proteínas de origen endógeno y los derivados de las membranas constituyan más del 90% de los péptidos unidos a las ranuras de las moléculas clase II. (Diagrama reproducido de Vignali DAA, Strominger JL. *The Immunologist* 1994; 2:112, con autorización de los autores y los editores.)

ficar la afinidad del complejo péptido-CMH, mientras que la "ausencia de sacos" también puede influir en las preferencias para secuencias de péptidos particulares, en especial si los obstáculos estéricos se convierten en un factor. Lamentablemente, no podemos establecer estas preferencias para los residuos individuales dentro de un péptido dado, debido a que la naturaleza abierta de la ranura de clase II no restringe la longitud del péptido, que puede colgar de manera indiferente de cada extremo de la ranura, bastante distinto del "chaleco de fuerza" que representa el del ligando de la clase I (figs. 5-20 y 5-21). En consecuencia, como se destacó antes, cada molécula clase II se une a una colección de péptidos con un espectro de longitudes que varían de 8 a 30 residuos de aminoácidos, y el análisis de estas mezclas que aparecen de manera natural aisladas del CMH no establecería cuáles son las cadenas naturales de aminoácidos se unen de modo preferencial a los nueve sitios disponibles dentro de la ranura. Un enfoque moderno es estudiar la unión de las moléculas clase II solubles a enormes bibliotecas de péptidos con secuencias al azar expresadas en la superficie de bacteriófagos (véase con las bibliotecas combinatorias de fagos, pág. 137). La idea que está surgiendo es que cada aminoácido en un péptido contribuye de manera independiente de los otros con la fuerza de unión total, y debería ser posible computar cada contribución cuantitativa de estos datos de unión al azar; de modo que por último podríamos predecir qué secuencia en un antígeno proteico dado se uniría a cierto alelo clase II.

Debido a la accesibilidad de la ranura, a medida que la molécula nativa se despliega y se reduce, pero antes de que se produzca degradación alguna, los epítopos de alta afinidad se entierran de inmediato en la ranura de unión a la clase II, donde están protegidos de la proteólisis. Al menos para la molécula HLA-DR1 se demostró que el péptido de unión conduce a una transición desde una estructura más abierta a una con una estructura más compacta que se extiende a lo largo de la ranura de unión al péptido. El arreglo o recorte puede llevarse a cabo después de la unión del péptido, lo que deja 8-30 aminoácidos de longitud. Varios factores influirán en la concentración relativa del complejo péptido-CMH formado: la afinidad para la ranura determinada por el encaje de las anclas, la facilitación u obstaculización por residuos internos (las secuencias externas de los residuos de unión poseen poco o ningún efecto en la especificidad de unión del péptido), la sensibilidad a las proteasas y la reducción de los disulfuros, y la competencia "corriente abajo" (hacia el extremo 3') desde los determinantes de afinidad más alta.

Los límites de concentración de los diferentes complejos peptídicos que se producen engendrarán una jerarquía de epítopos con respecto a su capacidad de interactuar con las células T; el más eficaz, el **dominante**, el menos eficaz, el **subdominante**. Los epítopos **propios** dominantes, y tal vez los subdominantes, por lo general inducirán tolerancia durante la ontogenia de células T, en el timo (véase pág. 259). Los complejos con algunos péptidos propios que son de relativa poca abundancia no tolerarán sus contrapartes de células T, y estas células T autorreactivas plantean una constante amenaza subyacente de autoinmunidad. Sercarz denominó **secretos** a estos epítopos y en el capítulo 19 se detallará su posible relación con la enfermedad autoinmune.

EL RECEPTOR αβ DE LA CÉLULA T FORMA UN COMPLEJO TERNARIO CON EL CMH Y EL PÉPTIDO ANTIGÉNICO

Las fuerzas involucradas en la unión del péptido con el CMH y en la unión del TCR al péptido-CMH son similares a las observadas entre el anticuerpo y el antígeno, es decir, no covalentes. Cuando preparaciones de TCR solubles producidas mediante tecnología de DNA recombinante se inmovilizan en un elemento sensor, estos TCR pueden unirse de manera específica al complejo CMH-péptido con afinidades bastante bajas (K_a), en el orden de 10^4 a 10^7 M^{-1}. Esta baja afinidad y la cantidad relativamente pequeña de contactos atómicos (27-68 en las estructuras resueltas hasta el presente), formados entre los TCR y sus ligandos CMH-péptido cuando las células T se ponen en contacto con su célula blanco, hacen que la contribución del reconocimiento de los TCR a la energía de unión de esta interacción celular sea bastante trivial. El embate más fuerte de la atracción descansa en las moléculas de adhesión principales independientes del antígeno, como ICAM-1/2, LFA-1/2 y CD2, pero cualquier activación posterior de la célula T por el CMH-péptido antigénico debe incluir la señalización a través del receptor de la célula T.

Topología del complejo ternario

De las tres regiones determinantes de la complementariedad presentes en cada cadena de TCR, CDR1 y CDR2 son mucho menos variables que CDR3, que, como su contraparte en las inmunoglobulinas, posee secuencias (D)J que son resultado de una multiplicidad de mecanismos combinatorios y de inserción de nucleótido (véase pág. 72). Dado que los elementos del CMH en un individuo dado son fijos, pero es esperable gran variabilidad en el péptido antigénico, un modelo razonable debería tener CDR1 y CDR2 de cada cadena de TCR que contacte con las α-hélices del CMH, y el CDR3 que interviene en la unión al péptido. De acuerdo con este punto de vista, en diversos estudios se demostró que las células T que reconocen variaciones pequeñas en un péptido en el contexto de un elemento de restricción del CMH dado sólo difieren en sus regiones hipervariables del CDR3.

Los sitios de combinación del TCR cristalizados hasta la fecha son relativamente planos (fig. 5-23), lo que sería de esperar dada la necesidad para la complementariedad a una superficie con ondulaciones leves de la combinación péptido-CMH. En el caso del reconocimiento de péptidos presentados por las moléculas clase I del CMH (fig. 5-24a), el TCR yace en diagonal a través del péptido-CMH con el dominio Vα del TCR que recubre la α_2-hélice del CMH y el N-terminal del péptido, y el dominio Vβ que recubre la α_1-hélice y la porción C-terminal del péptido (fig. 5-24b). Hasta que se resuelvan más estructuras de cristales, es imposible establecer cualquier regla rígida y rápida para la unión, pero ya es claro que las asas CDR3, que son las que poseen la máxima variabilidad, establecen los contactos principales con el péptido, en particular los centrados en el medio del péptido (P4 a P6). Los CDR1 pueden realizar contactos tanto con el péptido como con las α-hélices del CMH, mientras que hasta el presente parece que los CDR2 interactúan en gran medida con las α-hélices del CMH (fig. 5-24a y b). Estas interacciones inducen cambios conformacionales importantes en los CDR3. La reciente estructura de cristal de un TCR que reconoce un péptido presentado por la clase II del CMH indica que aquí hay una orientación diferente, con el

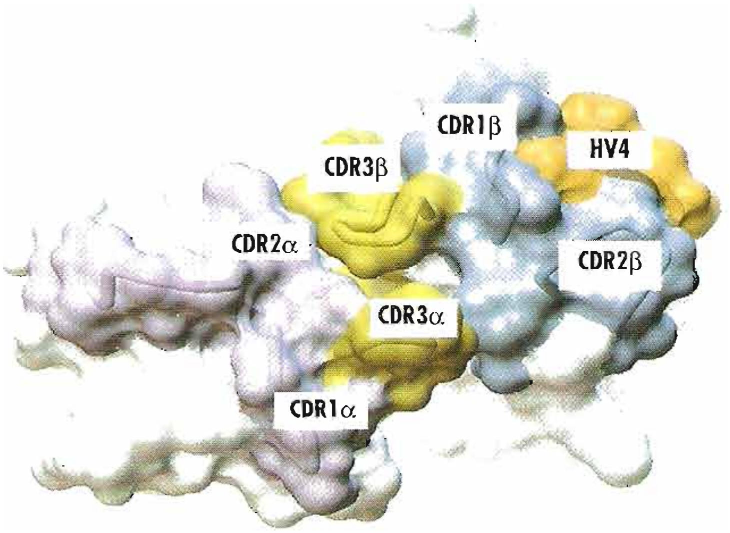


Fig. 5-23. **Sitio de combinación del antígeno con el receptor de la célula T.** Si bien la superficie es relativamente plana, hay un surco bien visible entre CDR3α y CDR3β que puede acomodar una cadena lateral central orientada hacia arriba del péptido unido en la ranura de una molécula del CMH. Los restos de la superficie y del asa de VαCDR1 y CDR2 figuran de color magenta, VβCDR1 y CDR2 de azul, VαCDR3 y VβCDR3 de amarillo y la cuarta región hipervariable Vβ, que toma contacto con algunos superantígenos, de naranja. (Reproducido de García KC, et al. *Science* 1996; 274:209, con autorización.)

TCR que atraviesa el péptido unido en una orientación octogonal (fig. 5-24c). Mientras que los péptidos presentados por las moléculas clase II del CMH son más largos, el tamaño del sitio de combinación del TCR limita el reconocimiento a un máximo de nueve residuos de la secuencia de péptidos, y de nuevo son los residuos centrales del péptido dentro de la ranura del CMH el centro de atención del TCR. El dominio Vα del TCR contacta con la β_1-hélice de la clase II y el dominio Vβ de la α_1-hélice.

Una idea es que el TCR "rastrea" el CMH y que la energía de unión entre TCR y el CMH es suficiente para permitirle al TCR atracar de modo transitorio en el complejo péptido-CMH y examinar el péptido. Si hay suficientes contactos energéticos favorables entre el TCR y el péptido-CMH, entonces puede producirse la señalización a través del complejo TCR. Parece probable que se puedan formar complejos de dos moléculas de TCR con dos unidades de CMH-péptido, y esta formación de complejos pueda unirse a la señalización de la célula T.

CÉLULAS T CON UNA PERSPECTIVA DIFERENTE

Las moléculas clase I no clásicas también pueden presentar al antígeno

Moléculas tipo clase I del CMH

Además de las moléculas clase I clásicas del CMH altamente polimorfas (HLA-A, HLA-B y HLA-C en los seres humanos y H-2K, H-2D y H-2L en el ratón), hay otros loci que codifican moléculas del CMH que contienen β_2-microglobulina con cadenas pesadas relativamente no polimorfas. Estos son **H-2M, H-2Q** y **H-2T** en los ratones y **HLA-E, HLA-F** y **HLA-G** en el *Homo sapiens*.

La molécula mejor estudiada codificada por el locus H-2M es la **H-2M3,** que presenta una capacidad poco habitual para presentar péptidos bacterianos *N*-formil metionina a las células T. La expresión de H-2M3 está limitada por la disponibilidad de estos péptidos, de modo que sólo se observan niveles altos durante las infecciones procarióticas. La demostración de la presencia de células T αβ con CD8 positivo restringidas por H-2M3 específicas para *Listeria monocytogenes* alienta el concepto de que esta molécula clase I podría suscribir una función fisiológica en la infección. El papel de la expresión de HLA-G en el sinciotrofoblasto se tratará en el capítulo 17 (pág. 422).

La familia CD1 de moléculas tipo clase I que no pertenecen al CMH puede presentar antígenos exóticos

Después de las clases I y II del CMH, la familia CD1 (pág. 86) representa un tercer linaje de moléculas presentadoras de antígeno reconocidas por los linfocitos T. La cadena polipeptídica se asocia con la β_2-microglobulina como lo hace una verdadera molécula tipo clase I, y la estructura global es similar a la de las moléculas clase I clásica, aunque la topología de la ranura de unión está alterada (véase fig. 4-18).

Las moléculas CD1 pueden actuar como **elementos de restricción** para la presentación de antígenos microbianos **lipídicos** y **glucolipídicos** a las células T. Un motivo estructural común facilita la presentación del antígeno mediado por CD1 y comprende una región hidrófoba de una cadena ramificada o con dobles acilos y una porción hidrófila formada por grupos polares o cargados del lípido, del hidrato de carbono asociado con él o de ambos. Las re-

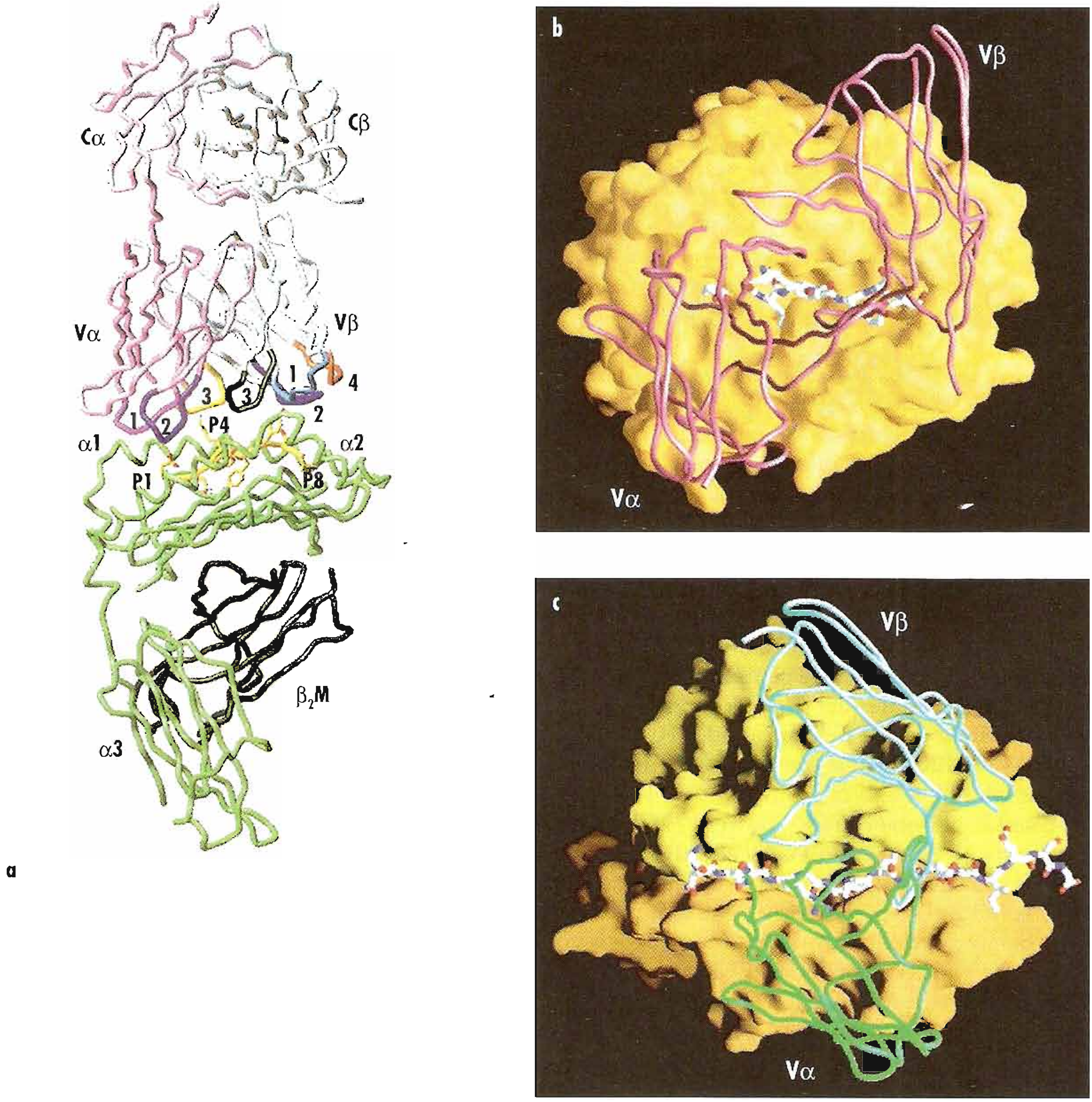


Fig. 5-24. Complementariedad entre el CMH-péptido y el receptor de célula T. a) Estructura de la columna de un TCR (designado 2C) que reconoce un péptido (dEV8) presentado por la molécula H-$2K^b$ clase I del CMH. El TCR se muestra en la mitad superior del cuadro, con la cadena α en color rosa y su CDR1 coloreado de magenta, el CDR2 en púrpura y el CDR3 en amarillo. La cadena β está coloreada de azul claro con su CDR1 celeste, CDR2 azul marino, CDR3 verde y la cuarta asa hipervariable en naranja. Debajo del TCR está la cadena α del CMH en verde y la β_2-microglobulina en verde oscuro. El péptido con su cadena lateral está coloreado de amarillo. (Reproducido de Garcia KC, et al. *Science* 1998; **279**:1166, con autorización.) b) El mismo complejo que mira hacia la parte inferior hacia la representación de la superficie molecular del H-$2K^b$ en amarillo, con el modo de atraque diagonal del TCR en una representación serpenteante de la columna de color castaño. El péptido dEV8 está dibujado con forma de esferas y barras. c) Por el contrario, aquí vemos el modo de atraque octogonal de un TCR que reconoce un péptido presentado por la clase II del CMH. La representación serpenteante de la columna del TCR (scD10) muestra el Vα en verde y el Vβ en azul, y la representación de la superficie molecular de I-A^k de la clase II posee una cadena en verde claro y la cadena β en naranja, que sostienen su péptido derivado de la conalbúmina. (Reproducido de Reinherz EL, et al. *Science* 1999; **286**:1913, con autorización.)

giones hidrófobas se entierran en la ranura de unión del CD1, si bien las regiones hidrófilas, como las estructuras de los hidratos de carbono, son reconocidas por el TCR. Debido a que el reconocimiento del antígeno por las células T restringidas por CD1 involucra clones diversos de TCR αβ y γδ, es probable que CD1 pueda presentar una amplia variación de estos antígenos. Un grupo de ligandos principales para CD1b está constituido por glucofosfatidilinositoles, como el componente lipoarabinomanano de la pared celular de las micobacterias.

Al igual que sus colegas proteináceos, los antígenos lipídicos y glucolipídicos exógenos se liberan al compartimiento endosómico ácido. La localización de las moléculas CD1 en la vía endocítica está mediada por una secuencia blanco en la cola citoplasmática. Hay evidencias de que el CD1a humano, que carece del motivo blanco, no localiza esta vía y por consiguiente es probable que deba seguir una vía diferente para la carga del péptido. El medio ácido del endosoma induce un cambio conformacional en CD1, por eso se produce la accesibilidad creciente al sitio de unión en la ranura hidrófoba de la molécula. Los antígenos derivados de patógenos endógenos también pueden estar presentados por la vía de CD1, pero en un proceso que, a diferencia de la presentación mediada por la clase I, es independiente de TAP y DM.

Algunas células T poseen marcadores NK

Las células T NK poseen el marcador NK1.1$^+$, característico de células NK, junto con un receptor de células T. Sin embargo, el TCR posee una cadena α invariable (Vα14-Jα281 en los ratones, Vα24-JαQ en los seres humanos) sin modificaciones en la región N y un repertorio limitado de cadena β. Estas células son un componente importante del compartimiento de células T, que comprende el 20-30% de las células T en la médula ósea y el hígado, y hasta el 1% de las células esplénicas. Las células T NK1.1$^+$ secretan interleucina-4 (IL-4) e IFNγ con rapidez luego de la estimulación, y en consecuencia pueden tener funciones reguladoras importantes. Si bien cantidades sustanciales de células T NK están restringidas por CD1, otras están restringidas por las moléculas clásicas del CMH.

Los TCR γδ poseen algunas características de los anticuerpos

A diferencia de lo que ocurre con las células T αβ, las células T γδ reconocen los antígenos directamente sin un requerimiento para el procesamiento del antígeno. Mientras que algunas células T que poseen un receptor γδ son capaces de reconocer las moléculas del CMH, los residuos polimorfos asociados con el péptido de unión y el péptido en sí no están involucrados. Así, un clon específico de células T γδ para la glucoproteína-1 del virus herpes simple puede ser estimulado por la proteína nativa unida al plástico, lo que sugiere que las células se activan por entrecruzamiento de sus receptores por el antígeno al que ellos reconocen en el estado nativo intacto, del mismo modo que lo hacen los anticuerpos. Existen argumentos estructurales que apoyan este concepto. Las asas CDR3, que son críticas para el reconocimiento del antígeno extraño por las células T y por los anticuerpos, son comparables en cuanto a la longitud y relativamente limitadas con respecto al tamaño en las cadenas α y β del TCR αβ, lo que tal vez refleja una constancia relativa en el tamaño de los complejos CMH-péptido a los que se unen. Las regiones CDR3 en las cadenas livianas de las inmunoglobulinas son cortas y limitadas de manera similar en su longitud, pero en las cadenas pesadas son en promedio más largas y más variables en longitud, lo que quizá se relacione con su necesidad de reconocer una gama amplia de epítopos. Llama mucho la atención que los TCR γδ se asemejan a los anticuerpos en que los asas CDR3 de la cadena γ son cortos con una distribución estrecha de la longitud, mientras en la cadena δ son largos con una amplia distribución en este sentido. Por consiguiente, en este aspecto, el **TCR γδ se asemeja al anticuerpo** más que el TCR αβ. La estructura cristalográfica con rayos X de un dominio Vδ del TCR resalta que el TCR γδ de hecho incorpora elementos estructurales clave tanto de las regiones V de inmunoglobulina como de TCR. En conjunto, las regiones del armazón son más parecidas al V_H del anticuerpo que al TCR Vα, mientras que las conformaciones y posiciones relativas de CDR comparten características con ambos dominios Vα y V_H. El sitio de unión del Vδ en esta estructura de cristal particular es una superficie relativamente plana similar a la observada en el TCR αβ. Sin embargo, el asa CDR3 de este Vδ es de 10 residuos de aminoácidos de longitud y, mientras que ésta es la longitud aproximada promedio de CDR3 Vδ, la distribución amplia de la longitud ya aludida significa que muchos de los receptores γδ poseerán CDR3 Vδ más largos o más cortos. Estos tendrán sitios de unión más aleatorios desde el punto de vista topográfio, lo que en consecuencia facilita la capacidad de las células T γδ para interactuar con el antígeno intacto más que con el procesado.

Se están esclareciendo más secretos del grupo de células T γδ. En el ratón se aislaron células T γδ que directamente reconocen la molécula I-E^k de la clase I del CMH, y las moléculas T10 y T22 no clásicas del CMH en forma independiente del péptido. T10 y T22 son expresadas por las células T αβ luego de su activación y se sugirió que las células T γδ específicas para estas moléculas no clásicas del CMH pueden ejercer una función reguladora. Las células que sufrieron estrés o daño parecen ser poderosas activadoras de las células γδ y hay evidencias de que ciertas moléculas, como las proteínas del choque térmico actúan como estimuladoras de las células T γδ. Los antígenos **no proteináceos que contienen fosfato**, de bajo peso molecular, como el pirofosfato de isopentenilo y fosfato de etilo, que aparecen en una diversidad de células microbianas y de mamíferos se identificaron como estimuladores potentes.

Una subpoblación particular de células γδ, que posee un espectro diverso de TCR que utiliza segmentos génicos *D* y *J* diferentes pero que siempre utiliza los mismos segmentos génicos *V*, *V*γ*2* y *V*δ2, se expande in vivo para abarcar una gran porción (8-60%) de las células T de sangre periférica durante una amplia variedad de infecciones. Estas células T *V*γ*2V*δ2 reconocen un grupo de antígenos apreciado en época reciente, las alquilaminas, que poseen propiedades químicas y biológicas distintas de los antígenos lipídicos y de los que contienen fosfato, lo que amplía aun más la variedad de antígenos no proteicos que pueden ser reconocidos por las células T. Varios antígenos con alquilaminas son producidos por patógenos del ser humano, como *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica* y *Escherichia coli*. Células T *V*γ*2V*δ2 individuales pueden reconocer alquilaminas con carga positiva y moléculas con carga negativa, como fosfato de etilo, pero esto debe ser bastante fácil de aceptar por el receptor, dado el pequeño tamaño, como el del hapteno, de estos antígenos.

Las características anteriores le confieren a las células γδ un papel distintivo complementario al de la población αβ y les permite actuar en el reconocimiento de patógenos microbianos y de células del huésped que sufrieron daño o estrés.

LOS SUPERANTÍGENOS ESTIMULAN FAMILIAS ENTERAS DE RECEPTORES DEL LINFOCITO

Las toxinas bacterianas representan un grupo importante de superantígenos para las células T

Mientras que un péptido individual que forma un complejo con el CMH reaccionará con las células T específicas para el antígeno, que representan un porcentaje relativamente pequeño del pool total de células T debido al requerimiento de la unión específica para regiones CDR3 particulares, se identificó una clase especial de molécula que estimula entre el 5 y el 20% de población total de células T, y que expresa la misma estructura de la familia TCR Vβ. Estas moléculas hacen caso omiso de la especificidad antigénica del receptor. Se describieron como **superantígenos** por Kappler y Marrack.

La familia de superantígenos de la toxina piógena puede causar intoxicación por alimentos, vómitos y diarrea, e incluye las enterotoxinas de *Staphylococcus aureus* (SEA, SEB y algunas otras), la toxina-1 del síndrome del shock tóxico estafilocócico (TSST-1), el superantígeno estreptocócico (SSA) y varias exotoxinas piógenas estreptocócicas (SPE). Si bien todas estas moléculas poseen una estructura similar, estimulan las células T que poseen secuencias Vβ diferentes. Son mitógenos poderosos para estas células T en presencia de células accesorias clase II del CMH. La SEA debe ser uno de los mitógenos más potentes de las células T conocidos y produce una proliferación marcada en límites de concentración entre 10^{-13} y 10^{-16} M. A semejanza de otros superantígenos puede causar la liberación de copiosas cantidades de citocinas, como IL-2 y linfotoxina, y de leucotrienos por las células cebadas, que es probable que sean las responsables de su capacidad de producir el síndrome del shock tóxico. Otros superantígenos que no pertenecen a la familia de superantígenos de la toxina piógena son las toxinas exfoliativas estafilocócicas (ET), mitógeno de *Mycoplasma arthritidis* (MAM) y de *Yersinia pseudotuberculosis*.

Los superantígenos no son procesados por las células presentadoras de antígenos, pero se unen de manera cruzada con la clase II y Vβ con independencia de la interacción directa entre las moléculas del CMH y moléculas de TCR (fig. 5-25).

Los virus de tumores mamarios endógenos del ratón (MMTV) actúan como superantígenos

Hace muchos años, Festenstein hizo la curiosa observación de que las células B de ciertas cepas de ratones podían producir poderosas respuestas proliferativas en alrededor del 20% de células T no programadas de otra cepa de ratones con idéntico CMH. El denominado producto génico Mls responsable de incitar la proliferación vuelve a ser codificado por el marco de lectura abierto (open reading frame –ORF–) localizado en la repetición terminal larga 3′ del MMTV. Son retrovirus del tipo B transmitidos como agentes infecciosos en la leche y son específicos para las células B. Se asocian con la clase II del CMH en la membrana de la célula B y actúan con toda seguridad como superantígenos a

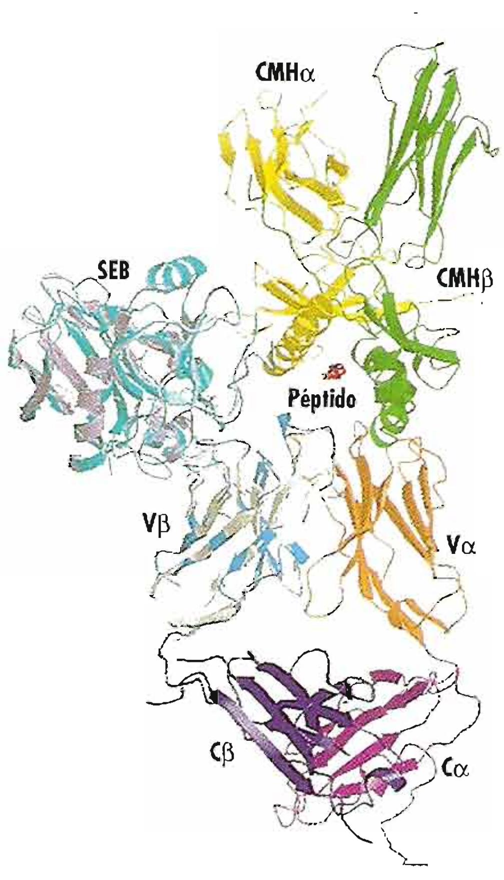


Fig. 5-25. Interacción del superantígeno con el CMH y el TCR. En este modelo compuesto, la interacción con el superantígeno enterotoxina B estafilocócica (SEB) comprende el SEB que se acuña entre la cadena Vβ del TCR y el CMH, lo que impide de manera eficaz la interacción entre el TCR y el péptido en la ranura, y entre la cadena β del TCR y el CMH. Por eso, el contacto directo entre el TCR y el CMH se limita a los residuos de aminoácidos de Vα. (Reproducido de Li H, et al. *Annual Review of Immunology* 1999; 17:435, con autorización.) Es probable que otros superantígenos rompan de modo directo la interacción del TCR con el péptido-CMH en magnitudes variables.

través de su afinidad por ciertas familias Vβ del TCR de una manera similar a las toxinas bacterianas. Otros superantígenos virales propuestos capaces de activar de manera policlonal las células T son la proteína de la nucleocápside del virus de la rabia y los antígenos asociados con citomegalovirus y virus de Epstein-Barr.

Los microbios también pueden proporcionar superantígenos para las células B

La proteína A estafilocócica no sólo reacciona con la región Fcγ de la IgG sino también con el 15-50% de la IgM policlonal, la IgA y la fracción $F(ab')_2$ de la IgG, que pertenecen en su totalidad a la familia V_H3. Este superantígeno es mitógeno para las células B por medio de su reconocimiento por una secuencia de unión discontinua compuesta por residuos de aminoácido de FR1, CDR2 y FR3 del dominio V_H. La glucoproteína gp120 del virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) también reacciona con inmunoglobulinas que utilizan integrantes de la familia V_H3. El sitio de unión parece superponerse en parte con el de la proteína A y utiliza residuos de aminoácidos de FR1, CDR1, CDR2 y FR3.

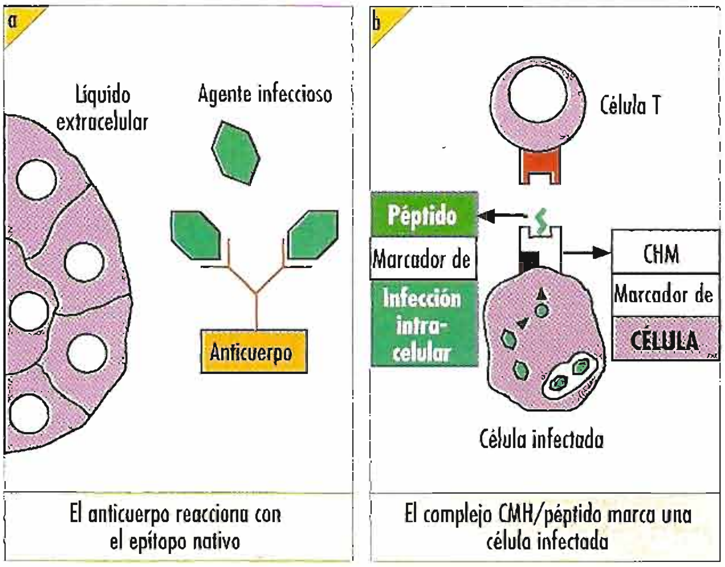


Fig. 5-26. a) Los anticuerpos se forman contra la forma nativa, no desnaturalizada de los agentes infecciosos, que son atacados en los líquidos extracelulares. b) Las células T reconocen las células infectadas por dos marcadores de superficie: el CMH es una señal para la célula y el péptido extraño está presente en la ranura del CMH, ya que deriva de las proteínas de un agente infeccioso intracelular. Señales adicionales de la superficie de la célula microbiana pueden ser proporcionadas por los antígenos no degradados y los que contienen fosfato de bajo peso molecular (percibidos por las células T γδ) y por lípidos y glucolípidos presentados por las moléculas CD1.

EL RECONOCIMIENTO DE FORMAS DIFERENTES DEL ANTÍGENO POR LAS CÉLULAS B Y T ES VENTAJOSO PARA EL HUÉSPED

Es nuestra convicción que esta sección trata un tema de suma importancia que está en el epicentro de la inmunología.

Los anticuerpos combaten microbios y sus productos en los líquidos corporales extracelulares donde existen, en esencia, en su forma nativa (fig. 5-26a). Representa una clara ventaja para el huésped que el receptor de la célula B reconozca epítopos en las **moléculas nativas**.

Las células T αβ tienen una función bastante diferente. En el caso de las células T citotóxicas y las T que secretan citocinas, que activan los macrófagos infectados, tienen que buscar y unirse a las células infectadas y llevan a cabo su función efectora cara a cara con el blanco. En primer lugar, con respecto a las proteínas producidas por agentes infecciosos intracelulares, las moléculas del CMH le avisan al linfocito T efector que encontraron una célula. En segundo lugar, la célula T no quiere atacar una célula no infectada en cuya superficie se asentó de manera accidental una molécula microbiana ni quisiera tener su blanco antigénico en la superficie de la célula apropiada bloqueada por un exceso de anticuerpos circulantes. Por esto es beneficioso para la célula infectada expresar el antígeno microbiano en su superficie de un modo distinto del de la molécula nativa. Como ya será más que claro, la solución de la evolución fue hacer que la célula T reconociera un péptido procesado derivado del antígeno intracelular y mantenerlo como un complejo con las moléculas de superficie del CMH. El receptor individual de la célula T reconoce entonces tanto al **marcador de la célula del CMH** como al **marcador peptídico de infección** en una misma operación (fig. 5-26b).

Una situación comparable se origina cuando las moléculas del CMH son sustituidas por las moléculas CD1 en la presentación del antígeno a las células T, en cuyo caso la asociación se produce con lípidos y glucolípidos microbianos procesados. El papel fisiológico de las células γδ aún no se develó en su totalidad.

RESUMEN

La naturaleza del reconocimiento del antígeno por el anticuerpo

- Un antígeno se define por su anticuerpo. El área del contacto con un anticuerpo se denomina **epítopo** y el área correspondiente en un anticuerpo, **parátopo**.
- Los antisueros reconocen una serie de cúmulos de epítopos dominantes en la superficie de un antígeno; cada cúmulo se denomina determinante.
- La mayoría de los epítopos en las proteínas globulares son **discontinuos** en lugar de **lineales**, comprenden aminoácidos muy separados en la secuencia primaria.
- Las regiones que protruyen y tal vez los segmentos flexibles de las proteínas globulares tienden a asociarse con densidades de epítopos más altas.

Los antígenos y anticuerpos interactúan por complementariedad espacial, no por uniones covalentes

- Las fuerzas de interacción incluyen las electrostáticas, uniones de hidrógeno, hidrófobas y de Van der Waals.
- Las fuerzas se tornan más grandes a medida que disminuye la separación entre el antígeno y el anticuerpo, sobre todo cuando se eliminan moléculas de agua.
- Las uniones antígeno-anticuerpo son **reversibles** con facilidad.
- Los antígenos y anticuerpos son mutuamente deformables.

Afinidad

- La fuerza de unión a un solo sitio de combinación del anticuerpo se determina por la **afinidad**.
- La reacción de antígenos multivalentes con una mezcla heterogénea de anticuerpos en un antisuero se define por la **avidez (afinidad funcional)** y por lo común es mucho mayor que la afinidad debido al "efecto de bonificación de la multivalencia".
- La **especificidad** de anticuerpos no es absoluta y éstos pueden reaccionar en forma cruzada con otros antígenos en grados diferentes, medida por sus avideces relativas.

Reconocimiento de las células T

- Las células T αβ perciben al antígeno en asociación con las moléculas del CMH.

- Están restringidas al haplotipo de la célula que primero programó a la célula T.
- Los antígenos proteicos son procesados por las células presentadoras de antígenos para formar péptidos lineales pequeños que se asocian con las moléculas del CMH y se unen a la ranura central formada por las α-hélices y el piso por la lámina β.

Procesamiento del antígeno para la presentación por la clase I del CMH

- Los antígenos citosólicos endógenos, como las proteínas virales, son clivados por los **inmunoproteasomas**, y los péptidos así formados son **transportados** al RE por el sistema TAP 1/2.
- El péptido luego se disocia del TAP 1/2 y forma un heterotrímero estable con la cadena pesada clase I del CMH recientemente sintetizada y la β_2-microglobulina.
- Este **complejo péptido-CMH** es transportado luego a la superficie para la presentación a las células T citotóxicas.

Procesamiento del antígeno para la presentación por la clase II del CMH

- La **molécula** αβ **clase II** se sintetiza en el RE y forma complejos con la **cadena invariante (Ii)** unida a la membrana.
- Esto facilita el transporte de las vesículas que contienen clase II por el Golgi y las dirige a un endosoma tardío acidificado o un lisosoma que contienen la proteína exógena ingresada en la célula por endocitosis o fagocitosis.
- La degradación proteolítica de Ii en el endosoma forma un péptido denominado CLIP que protege la ranura del CMH.
- El procesamiento por las proteasas endosómicas degrada el antígeno a péptidos que reemplazan el CLIP.
- El complejo **clase II-péptido** ahora aparece en la superficie celular para la presentación a las células T-helper.

La naturaleza del péptido

- Los péptidos clase I se mantienen en una conformación extendida dentro de la ranura del CMH.
- Por lo común son de 8-9 residuos de longitud y poseen **dos** o tres residuos de **anclaje** clave, relativamente invariables que se unen a sacos con alelos específicos en el CMH.
- Los péptidos clase II presentan entre 8 y 30 residuos de largo, se extienden más allá de la ranura y por lo común poseen tres o cuatro residuos de anclaje.
- Los otros residuos de aminoácidos en el péptido son muy variables y reconocidos por el receptor de células T (TCR).

Complejo entre TCR, CMH y péptido

- Las regiones hipervariables primera y segunda (CDR1 y CDR2) de cada cadena de TCR contactan sobre todo con las α-hélices del CMH, mientras que los CDR3, que poseen la máxima variabilidad, interactúan con el péptido antigénico. Es probable que se formen complejos de TCR_2 con $(CMH\text{-}péptido)_2$.

Algunas células T son independientes de las moléculas clásicas del CMH

- Las moléculas tipo clase I del CMH, como H-2M, son relativamente no pleomorfas y pueden presentar antígenos, como los péptidos bacterianos *N*-formil metionina.
- La familia CD1 de las moléculas tipo clase I que no pertenecen al CMH pueden presentar antígenos como lípidos y glucolípidos de las micobacterias.
- Las células T γδ se asemejan a los anticuerpos al reconocer moléculas no procesadas enteras como moléculas no proteináceas que contienen fosfato, de bajo peso molecular.

Superantígenos

- Son mitógenos potentes que estimulan subpoblaciones enteras de linfocitos que comparten la misma familia TCR Vβ o inmunoglobulina V_H con independencia de la especificidad del antígeno.
- Las enterotoxinas del *Staphylococcus aureus* son superantígenos poderosos para el ser humano que producen intoxicaciones por alimentos y el síndrome de shock tóxico.
- Los superantígenos de células T no son procesados pero se unen de manera cruzada con la clase II del CMH y TCR Vβ con independencia de su interacción directa.
- Los virus de los tumores mamarios de los ratones son retrovirus de las células B que actúan como superantígenos en el ratón.

CAPÍTULO 6

Técnicas inmunoquímicas

www.el12cirujano.blogspot.com/

Introducción, 119
Estimación de anticuerpos, 120
  Interacciones antígeno-anticuerpos en solución, 120
  Aglutinación de partículas recubiertas por antígeno, 123
  Inmunoensayos para anticuerpos que utilizan antígenos en fase sólida, 125
Detección de formación de complejos inmunes, 127
Identificación y determinación de antígenos, 127
  La reacción de precipitación puede realizarse en geles, 127
  Ensayo nefelométrico para antígenos, 128
  Electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecil sulfato de sodio (SDS-PAGE) para el análisis de inmunoprecipitados e inmunotransferencia, 129
  Inmunoensayo de antígenos, 130
  Mapeo de epítopos, 131
Elaboración de anticuerpos por encargo, 133
  La revolución de los anticuerpos monoclonales, 133
  Anticuerpos por ingeniería genética, 137
Purificación de antígenos y anticuerpos por cromatografía de afinidad, 139
Neutralización de la actividad biológica, 140
Resumen, 140
Lecturas adicionales, 142

INTRODUCCIÓN

Dado que los antígenos y anticuerpos se definen por sus interacciones mutuas, uno de ellos puede utilizarse para cuantificar al otro. Antes de comenzar con los detalles, merece la pena preguntarse ¿Qué significa "contenido de anticuerpos"?

Si disponemos de una solución de un anticuerpo monoclonal, podemos definir su afinidad y especificidad con considerable confiabilidad y, si está en estado puro y en su conformación nativa, conoceremos que la concentración de anticuerpos es la misma que la de la inmunoglobulina, en ng/mL u otra unidad. Cuando se determina el contenido de anticuerpos en un antisuero, el problema es diferente debido a que la fracción inmunoglobulina está compuesta de una serie enorme de moléculas en cantidades y afinidad variables (fig. 6-1a).

Es posible obtener una constante K_a **promedio** para la IgG entera por el análisis global de la interacción con el antígeno con una ecuación de acción de las masas. Pero, ¿cómo puede definirse el **contenido de anticuerpos** IgG de una manera importante? La respuesta es de hecho la que uno desearía para describir el anticuerpo en términos funcionales prácticos: un suero que protege contra una dosis infecciosa dada de virus, que promueve la fagocitosis eficaz de las bacterias, que permite la bacteriólisis mediada por complemento, que neutraliza las toxinas, y así sucesivamente. Para estos objetivos las moléculas de muy baja afinidad serían inútiles, debido a que forman cantidades inadecuadas de complejos con el antígeno.

En la práctica, en un laboratorio de diagnóstico las pruebas funcionales requieren un intenso trabajo; y en consecuencia son costosas y por lo común se busca un compromiso mediante el empleo de ensayos inmunoquímicos, que determinan un compuesto del medio para anticuerpos de alta afinidad y su cantidad. La mayoría de estas pruebas en general determina la cantidad total de anticuerpos que se unen a una cantidad dada de antígeno; podría ser una cantidad moderada de anticuerpos de alta afinidad o una cantidad mucho mayor de anticuerpos de más baja afinidad, o todas las combinaciones posibles entre ellos. Los sueros pueden compararse de acuerdo con su "contenido de anticuerpos" (alto o bajo) ya sea por la determinación de cuántos anticuerpos se unen al antígeno en una dilución fija del suero o por la comprobación de una dilución seriada del suero para comprobar a qué nivel una cantidad estándar de antígeno es suficiente para dar un resultado positivo de la unión. Éste es denominado **título de anticuerpos**. Para tomar un ejemplo, un suero podría diluirse, digamos, 10.000 veces y aun dar una prueba de aglutinación positiva (véase fig. 6-9). Este título de 1:10.000 permite realizar una comparación con otro suero mucho "más débil" que sólo posea un título, digamos, 1:100. Nótese que el título de un suero dado variará de acuerdo con la sensibili-

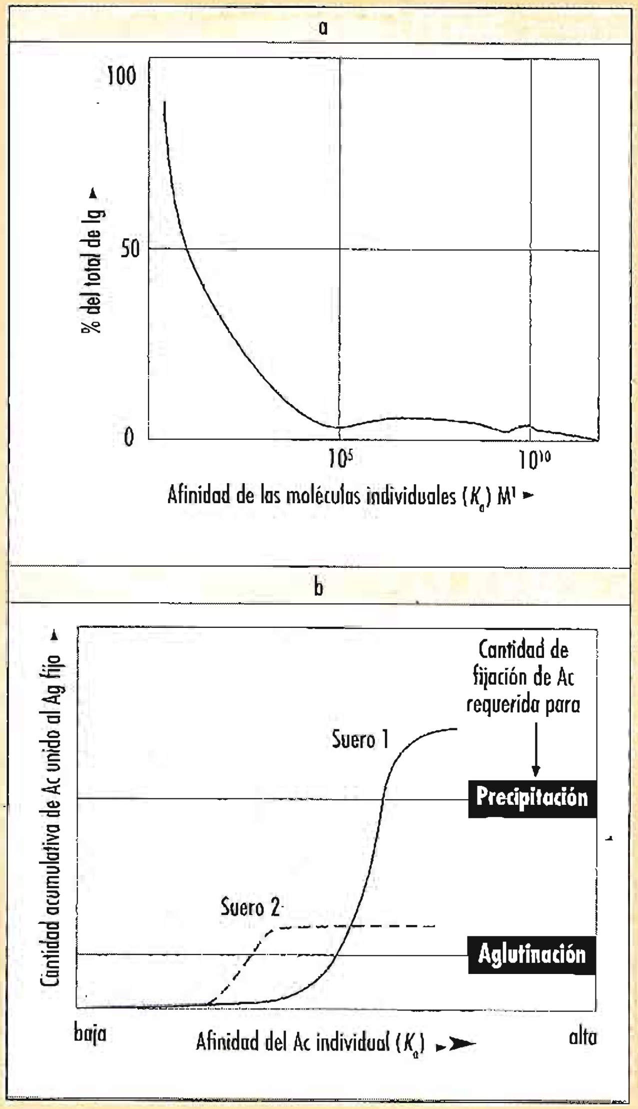


Fig. 6-1. Distribución de la afinidad y el contenido de moléculas de IgG en un suero individual. a) Distribución de las afinidades de moléculas de IgG para un antígeno dado en el suero de un individuo hipotético. Existe una cantidad de anticuerpos de baja afinidad que sería incapaz de unirse de manera eficaz con el antígeno; se asume que cantidades mucho menores de anticuerpos de alta afinidad con distribución sesgada se originan por la exposición a la infección. **b)** Relación de la distribución de afinidad con la positividad en las pruebas para la unión del antígeno. Si se reordena la ecuación de acción de las masas, para todas las moléculas de la misma afinidad K_x y la concentración de los anticuerpos no unidos $[Ac_x]$:

la cantidad de complejos formados $[Ag\ Ac] \propto K_x\,[Ac_x]$ por $[A_g]$ fijo.

Comenzando con las moléculas de menor afinidad en el suero, graficamos el total acumulativo de anticuerpos unidos para cada especie de anticuerpo hasta la que figura en el gráfico. Como podría esperarse, los anticuerpos de muy baja afinidad no contribuyen a las pruebas. El suero 2 posee más anticuerpos de baja afinidad y casi nada de anticuerpos de alta afinidad, pero puede producir suficiente cantidad de complejos como para reaccionar en la prueba de la aglutinación sensible, aunque, a diferencia del suero 1, forma una cantidad insuficiente como para dar una reacción de precipitación positiva. Debido a su relativamente alto "contenido" de anticuerpos, el suero 1 puede diluirse en una magnitud mucho mayor que el suero 2 y aun da aglutinación positiva, es decir posee un título más alto. La prueba de precipitación es menos sensible, requiere mayor formación de complejos y el suero 1 no puede diluirse mucho antes de que esta prueba se torne negativa; es decir, el título de precipitinas será mucho más bajo que el título de aglutinación para el mismo suero.

dad de la prueba, ya que se necesitan cantidades mucho más pequeñas de anticuerpos para unirse al antígeno cuando la prueba posee una alta sensibilidad, como la aglutinación, que en el caso de una prueba de baja sensibilidad, como la precipitación, la cual requiere concentraciones altas del producto antígeno-anticuerpo (fig. 6-1b).

Para resumir: puede compararse el "**contenido efectivo de anticuerpos**" de sueros diferentes por la observación de **la cantidad de anticuerpos unidos a la cantidad fija del antígeno de prueba,** o pueda determinarse el título, es decir, **cuánto puede diluirse el suero antes de que la prueba se torne negativa**. Éste es un término medio entre la cantidad y la afinidad, y con fines prácticos se utiliza como un indicador aproximado de la eficacia biológica.

ESTIMACIÓN DE ANTICUERPOS

Interacciones antígeno-anticuerpo en solución

Reacción de precipitación clásica

Cuando un antígeno en solución se agrega de manera progresiva a un antisuero potente, se forman precipitados del complejo antígeno-anticuerpo (fig. 6-2a y b). El entrecruzamiento de antígenos y anticuerpos da origen a estructuras enrejadas tridimensionales, como lo sugirió John Marrack, las que coalescen, en gran parte a través de la interacción Fc-Fc, para formar grandes agregados que precipitan. A medida que se agrega más y más antígeno se alcanza un óptimo (fig. 6-2b) después del cual, de modo uniforme, se forma menos precipitado. En esta etapa puede demostrarse que el sobrenadante contiene complejos solubles de antígeno (Ag) y anticuerpo (Ac), gran parte con composición Ag_4Ac_3, Ag_3Ac_2 y Ag_2Ac (fig. 6-2c). En el extremo de exceso de antígeno (fig. 6-2c) el análisis por ultracentrifugación revela que los complejos son sobre todo de la forma Ag_2Ac, un resultado directamente atribuible a los dos sitios de combinación (divalencia) de la molécula del anticuerpo IgG (véase estudio por microscopia electrónica, fig. 3-1, y análisis de Scatchard, fig. 5-10a).

Los sueros contienen con frecuencia hasta el 10% de anticuerpos no precipitantes, los que son efectivamente monovalentes debido a la presencia asimétrica de oligosacáridos en uno de los brazos de unión al antígeno de la molécula de anticuerpo, que bloquea de modo estereoquímico el sitio de combinación. Asimismo, los precipitados francos sólo se observan cuando los antígenos, y en particular los anticuerpos, están presentes en concentraciones bastante grandes. Por lo tanto, cuando se forman los complejos que no precipitan de manera espontánea, deben aplicarse métodos más sofisticados para estimar el nivel de anticuerpos.

Los anticuerpos no precipitantes pueden detectarse por nefelometría

Los pequeños agregados formados cuando se mezclan soluciones diluidas de antígeno y anticuerpo crean una nubosidad o turbidez, que puede determinarse por dispersión angular anterior de una fuente de luz incidente (nefelometría). La mayor sensibilidad puede obtenerse mediante el uso de una luz monocromática proveniente de un láser y con el agregado de polietilenglicol a la solución, de modo tal que aumenta el tamaño del agregado.

En la práctica, la nefelometría se aplica más a la detección de antígenos que a la de anticuerpos y esto será tratado en una sección posterior.

Los complejos formados por anticuerpos no precipitantes pueden ser precipitados

La capacidad relativa de unión al antígeno de un antisuero que forma complejos solubles puede estimarse por medio de un antígeno radiomarcado. El complejo puede separarse de la solución ya sea por el cambio de su solubilidad o por el agregado de un reactivo antiinmunoglobulina como en la figura 6-3.

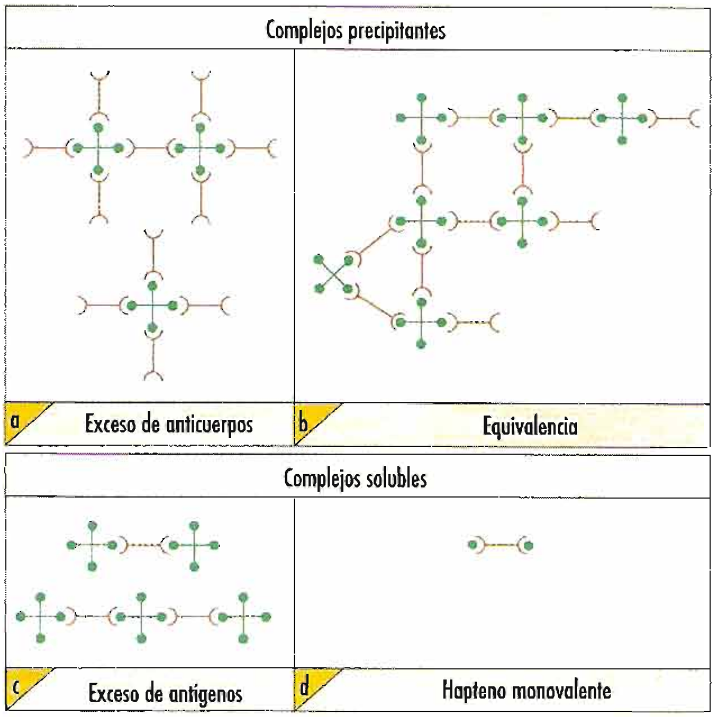


Fig. 6-2. Representación esquemática de complejos formados entre un antígeno hipotético tetravalente (✚) y un anticuerpo bivalente (⟩—⟨) mezclados en diferentes proporciones. En la práctica, es poco probable que las valencias del antígeno se encuentren en el mismo plano o que se formen por determinantes idénticos, como se sugiere en la figura. **a)** En el extremo de exceso de anticuerpos, las valencias del antígeno están saturadas y la relación molar Ac:Ag se aproxima a la valencia del antígeno. **b)** En la zona de equivalencia, la mayor parte del antígeno y del anticuerpo se combinan para formar grandes enrejados que se agregan para producir inmunoprecipitados típicos. **c)** En el extremo de exceso de antígeno, donde las dos valencias de cada molécula de anticuerpo se saturan con rapidez, tiende a predominar el complejo Ag_2Ac. **d)** Un hapteno monovalente se une pero es incapaz de entrecruzarse con las moléculas de anticuerpo.

Incremento de la precipitación por inmunoelectroforesis con contracorriente

Esta técnica puede aplicarse a antígenos que migran hacia el polo positivo en la electroforesis en agar (si es necesario, los antígenos pueden sustituirse por grupos con carga negativa para lograr este fin). El antígeno y el antisuero se colocan en orificios realizados en el agar y se les aplica una corriente eléctrica (fig. 6-4). El antígeno migra de manera progresiva a la zona del anticuerpo donde sucesivamente se une más y más a las moléculas del anticuerpo, en esencia con un aumento artificial de la concentración efectiva de anticuerpo y, en consecuencia, forma una línea de precipitina.

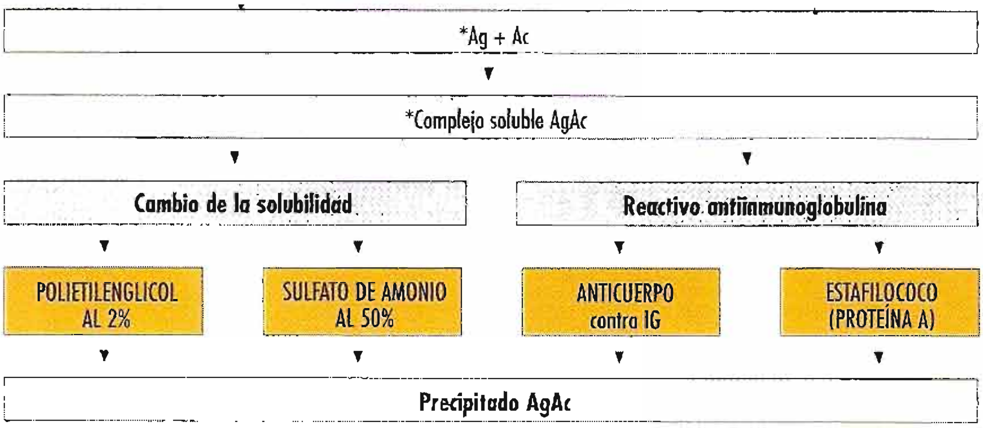


Fig. 6-3. Capacidad de unión de un antisuero a un antígeno marcado (*Ag) por precipitación de complejos solubles ya sea: i) por cambios en su solubilidad, de modo que los complejos precipitan mientras que los Ag y Ac no combinados permanecen en solución o ii) por el agregado de un anticuerpo antiinmunoglobulina precipitante o microorganismos estafilococos que pueden unirse a la fracción Fc de la inmunoglobulina o a la proteína A de su superficie; entonces el complejo puede ser determinado. El nivel de la marca (p. ej., radiactividad) en el precipitado será una medida de la capacidad de unión del antígeno.

Determinación de la afinidad del anticuerpo

Como se comentó en capítulos anteriores (véase pág. 94), la fuerza de unión del anticuerpo para el antígeno se determina en términos de la constante de asociación (K_a) o su recíproca, la constante de disociación (K_d), que gobierna la interacción reversible entre ellos y es definida por la ecuación de acción de las masas en equilibrio:

$$K_a = \frac{[\text{complejo AgAc}]}{[\text{Ag libre}]\,[\text{Ac libre}]}$$

Con haptenos de tamaño pequeño puede emplearse el método de diálisis en equilibrio para determinar K_a (véase pág. 98), pero por lo común tratamos con antígenos más grandes y deben utilizarse otras técnicas. Un punto de vista es agregar cantidades crecientes de antígeno radiomarcado para una cantidad fija de anticuerpos y luego realizar la separación del anticuerpo libre del unido, mediante la precipitación del complejo soluble como se describió antes (p. ej., por una antiinmunoglobulina). La recíproca de la concentración de anticuerpo unido, es decir acomplejado, puede graficarse con respecto a la recíproca de la concentración de antígeno libre, de modo que permite calcular la constante de afinidad (fig. 6-5a). En un antisuero esto dará una constante de afinidad que representa un promedio de los componentes heterogéneos del anticuerpo y una medida de la cantidad efectiva de sitios de unión al antígeno operativos en los niveles más altos del antígeno utilizado.

Se desarrollaron diversos tipos de ELISA (véase más abajo) que proporcionan una medición de la afinidad de anticuerpos. En un sistema, en primer lugar se deja que los anticuerpos se unan a su antígeno y luego se agrega un agente caotrópico como el tiocianato en concentraciones crecientes, con el objeto de romper la unión del anticuerpo; cuanto más alta la afinidad del anticuerpo, mayor cantidad del agente se requiere para reducir la unión. Otro tipo de ELISA para la medición de la afinidad es el sistema competitivo indirecto diseñado por Friguet y col. (fig. 6-5b). Una cantidad constante de anticuerpos se incuba con concentraciones seriadas de antígeno y el anticuerpo libre en equilibrio se evalúa por una unión secundaria al antígeno en fase sólida. De este modo, los valores de K_a no son afectados por ninguna distorsión del antígeno causada

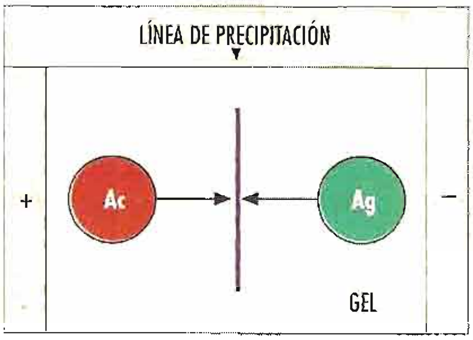


Fig. 6-4. Inmunoelectroforesis con contracorriente. El anticuerpo se desplaza hacia el polo negativo en el gel de la electroforesis debido a la endósmosis; un antígeno con carga negativa en el pH empleado se desplazará hacia el polo positivo y precipita cuando se pone en contacto con el anticuerpo.

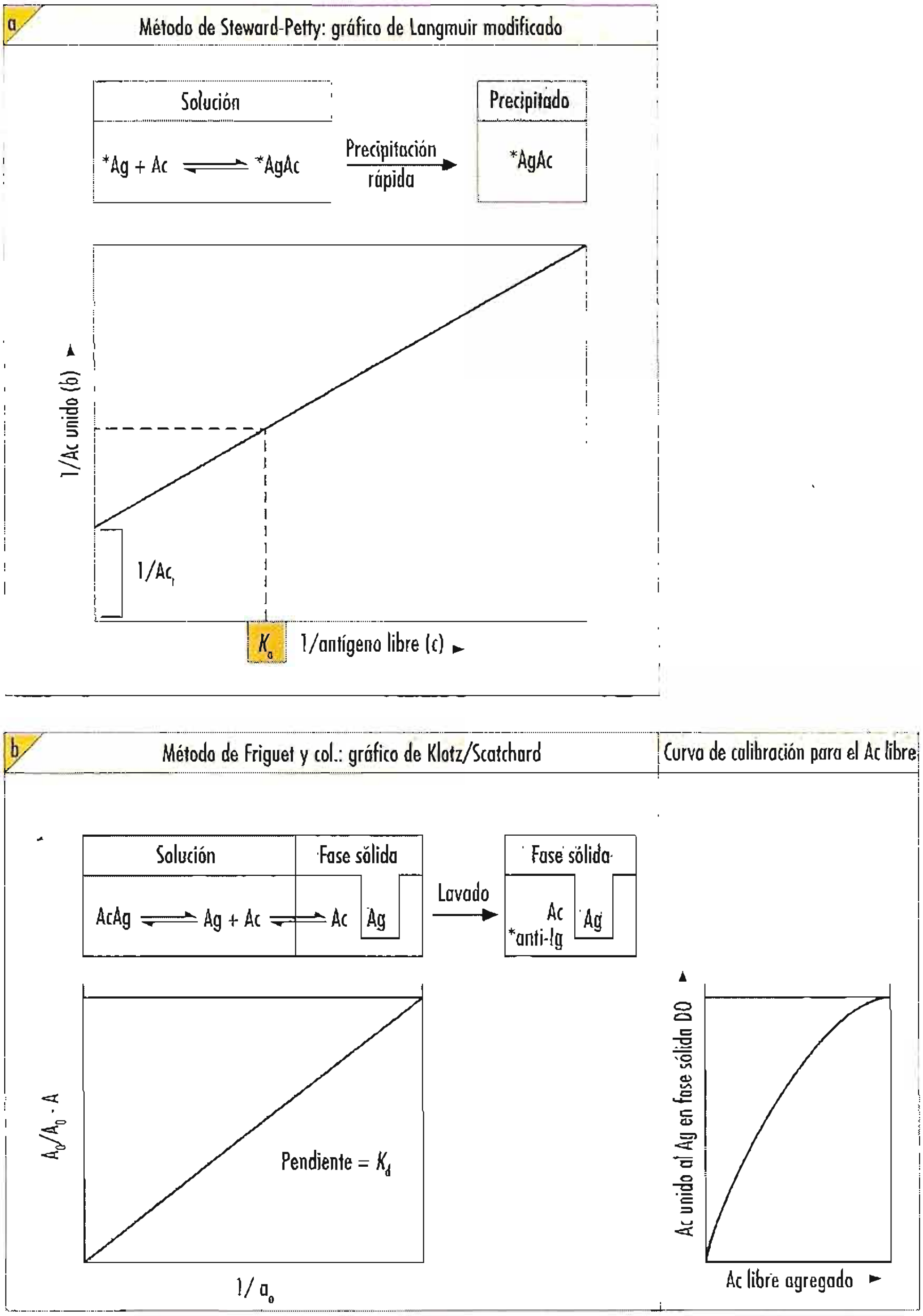


Fig. 6-5. Determinación de afinidad con antígenos de gran tamaño. El equilibrio entre Ac y Ag en diferentes concentraciones se determina de la siguiente forma:
a) En el caso de un antisuero policlonal se puede utilizar la modificación de Steward-Petty de la ecuación de Langmuir:

$1/b = 1/(Ac_t.c.K_a) + 1/Ac_t$

donde Ac_t son sitios de combinación de Ac totales; b, concentración de Ac unidos; c, concentración de Ag libre, y K_a, constante de afinidad promedio. En una concentración infinita de Ag, todos los sitios de Ac están unidos y $1/b = 1/Ac_t$. Cuando la mitad de los sitios de Ac están unidos, $1/c = K_a$ (véase pág. 96). b) Método de Friguet y col. Para anticuerpos monoclonales. Primero se establece una curva de calibración para los anticuerpos libres por la estimación de la proporción de unión al antígeno en la fase sólida, el anticuerpo unido se determina por anti-Ig marcada por enzimas (ELISA: véase el texto). Cuando se utiliza una curva de calibración, la cantidad de Ac libre en equilibrio con Ag en solución se determina por la cantidad de Ac que se une con el Ag en fase sólida (la cantidad de antígeno en fase sólida es insuficiente para afectar de modo material el equilibrio de la solución). La combinación de las ecuaciones de Klotz y Scatchard da:

$A_0/A_0 - A = 1 + K_d/a_0$

Donde Ao = densidad óptica (DO) de ELISA para el Ac en ausencia de Ag, A = DO en presencia de concentración de Ag a_0 donde a_0 es aproximadamente una concentración de 10 × de Ac. La pendiente del gráfico da K_d. (Las moléculas marcadas tienen un asterisco.)

por el marcado. De nuevo, esto destaca la superioridad de la determinación de la afinidad mediante el estudio de la **reacción primaria** con un antígeno en **estado soluble**, más que alterado desde el punto de vista conformacional por la unión a una fase sólida.

Cada vez más se obtienen determinaciones de afinidad mediante el uso de **resonancia plasmón de superficie**. Un dispositivo sensor que consiste en un anticuerpo monoclonal acoplado al dextrán recubre una película de oro sobre un prisma de vidrio que reflejará la luz total e interna en un ángulo dado (fig. 6-6a).

El antígeno presente en el pulso del líquido se unirá al dispositivo sensor y, aumentando su tamaño, altera el ángulo de reflexión. El sistema proporciona datos referidos a la cinética de asociación y disociación (y de allí K) (fig. 6-6b) además permite realizar comparaciones entre los anticuerpos monoclonales y también la evaluación de efectos sutiles de mutaciones.

Aglutinación de partículas recubiertas por antígeno

Mientras que el entrecruzamiento de los antígenos proteicos multivalentes con el anticuerpo produce una precipitación, la interrelación entre células o partículas de gran tamaño con los anticuerpos

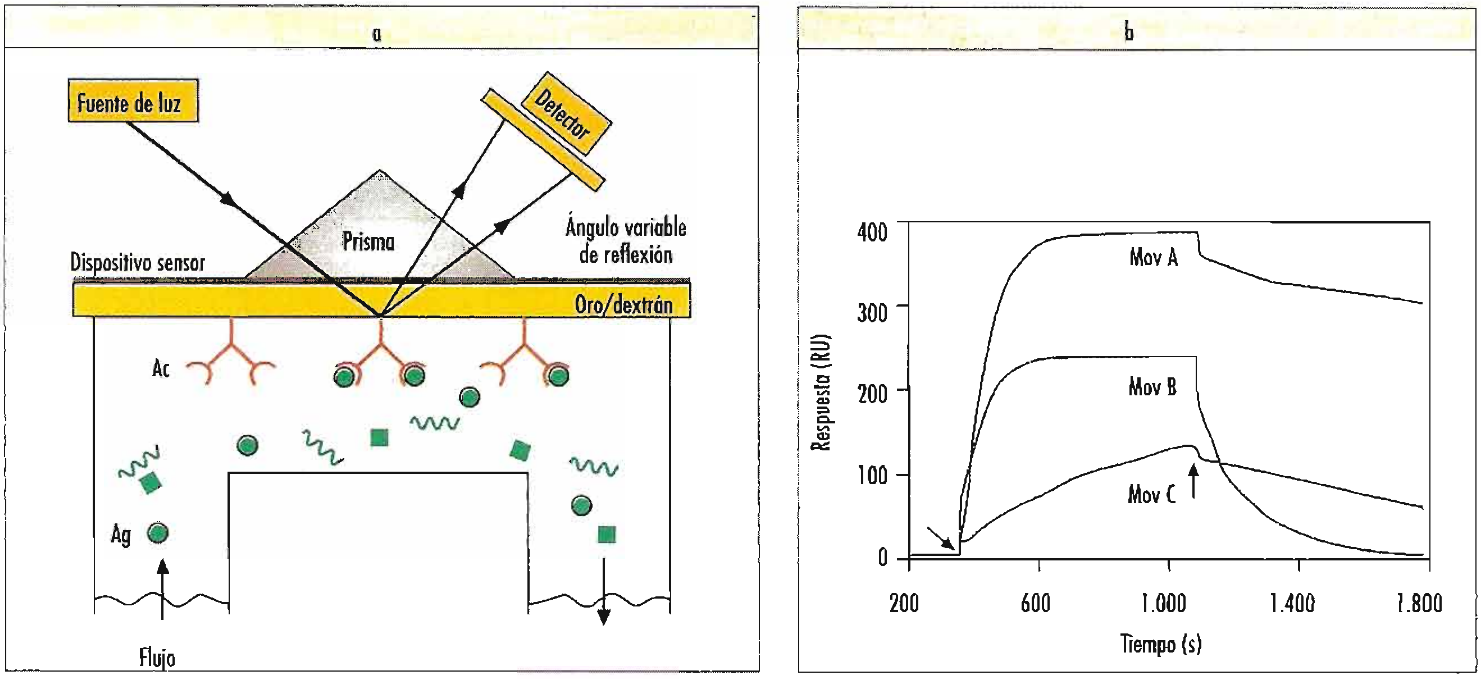


Fig. 6-6. Resonancia plasmón de superficie. a) Principio: a medida que el antígeno se une al dispositivo sensor recubierto con anticuerpo, se altera el ángulo de reflexión. **b)** Esto señala las velocidades de asociación durante el pulso del antígeno y la disociación. En este ejemplo, el mismo antígeno fue inoculado en tres anticuerpos monoclonales inmovilizados. Las flechas indican el comienzo y el fin de la inoculación del antígeno, que luego es seguida por el flujo del buffer. Nótense las diferencias entre los anticuerpos en las velocidades de asociación y disociación. (Los datos son una gentileza del doctor R. Karlsson, Biacore AB, y reproducidos de Panayotou G. (1998) Surface plasmon resonance. En: Delves P.J. & Roitt I.M. (eds) *Encyclopedia of Immunology*, 2nd ed. Academic Press, con autorización.) El sistema puede utilizarse con el antígeno inmovilizado en el dispositivo sensor y el anticuerpo en la fase líquida, o puede aplicarse a cualquier ensayo de unión a un único ligando.

dirigidos contra los antígenos de superficie conduce a una aglutinación. Dado que la mayoría de las células posee cargas eléctricas, se requiere una cantidad razonable de anticuerpos entre dos células antes de que se supere la repulsión mutua. Por esto, puede ser difícil lograr la aglutinación de células que sólo poseen un número pequeño de determinantes, a menos que se utilicen métodos especiales, como el tratamiento adicional con un reactivo antiglobulina. De manera similar, la mayor avidez del anticuerpo multivalente IgM con respecto a la IgG (véase pág. 98) hace que el primero sea más eficaz como agente aglutinante, molécula por molécula (fig. 6-7).

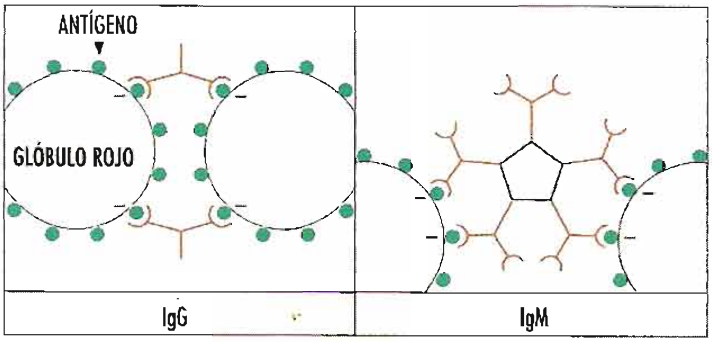
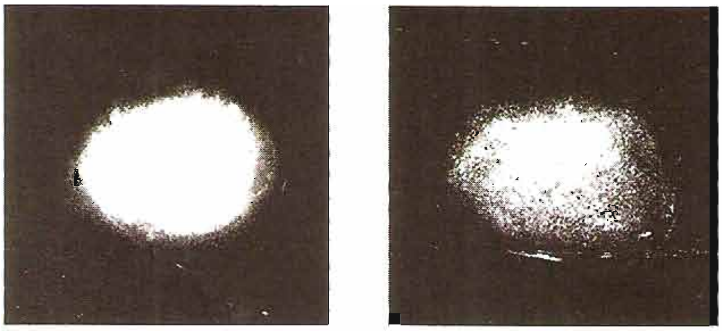


Fig. 6-7. Mecanismo de aglutinación de partículas recubiertas por antígeno, por entrecruzamientos para formar grandes agregados macroscópicos. Si se utilizan glóbulos rojos, se necesitan varios entrecruzamientos para vencer la carga eléctrica en la superficie celular. La IgM es superior a la IgG como elemento aglutinador, debido a su unión multivalente y a que las células con carga eléctrica están más separadas.

Las reacciones de aglutinación se utilizan para identificar bacterias y para tipificar los glóbulos rojos; estas reacciones fueron observadas con leucocitos y plaquetas, e incluso con espermatozoides en ciertos casos de infertilidad masculina debida a aglutininas presentes en el esperma. Debido a su sensibilidad y conveniencia, el uso de la prueba se ha extendido a la identificación de anticuerpos contra antígenos solubles que de modo artificial se adhieren sobre los eritrocitos, las partículas de látex o de gelatina. La aglutinación de las partículas de látex recubiertas por IgG se utiliza para detectar los factores reumatoideos (fig. 6-8). Pruebas similares que utilizan partículas recubiertas con antígeno pueden llevarse a cabo en placas de microtitulación con fondo en U, donde puede observar-



a b

Fig. 6-8. Aglutinación macroscópica de las partículas de látex recubiertas con IgG humana del suero proveniente de un paciente con artritis reumatoidea. Éste contiene factor reumatoideo, un autoanticuerpo dirigido contra determinantes en la IgG. **a)** Suero normal. **b)** Suero del paciente.

se el patrón de sedimentación en el fondo de las cubetas (fig. 6-9); esto proporciona un indicador más sensible que la aglutinación macroscópica. La cuantificación de grados más sutiles de aglutinación puede lograrse por nefelometría o por un contador Coulter.

Inmunoensayos para anticuerpos que utilizan antígenos en fase sólida

Principio

El contenido de anticuerpo de un suero puede evaluarse por la capacidad de unirse al antígeno, el cual puede inmovilizarse por adsorción física a un tubo de plástico o placa de microtitulación con múltiples cubetas; luego la inmunoglobulina unida puede estimarse mediante el agregado de una anti-Ig marcada producida en otra especie (fig. 6-10). Considérese, por ejemplo, la determinación de autoanticuerpos anti-DNA en el LES (véase pág. 457). Cuando se agrega suero de un paciente a una placa de múltiples cubetas recubiertas con antígeno (en este caso DNA), los autoanticuerpos se unirán al antígeno y las proteínas remanentes del suero pueden eliminarse con facilidad por el lavado. El anticuerpo unido puede estimarse ahora por el agregado de IgG de conejo purificada antihumana marcada con ^{125}I; luego de la eliminación por lavado del exceso de reactivo no unido, la radiactividad del tubo será una medida clara del contenido de autoanticuerpos en el suero del paciente. La distribución de anticuerpos en diferentes clases puede determinarse mediante el empleo de antisueros específicos. Tómese la prueba radioalergoabsorbente (RAST) para anticuerpos IgE en pacientes alérgicos. El alérgeno (p. ej., extracto de polen) está acoplado de manera covalente a un inmunoabsorbente, en este caso un disco de papel que luego es puesto en contacto con el suero del paciente. La cantidad de IgE específica unida al disco de papel puede estimarse ahora por el agregado de anti-IgE marcada.

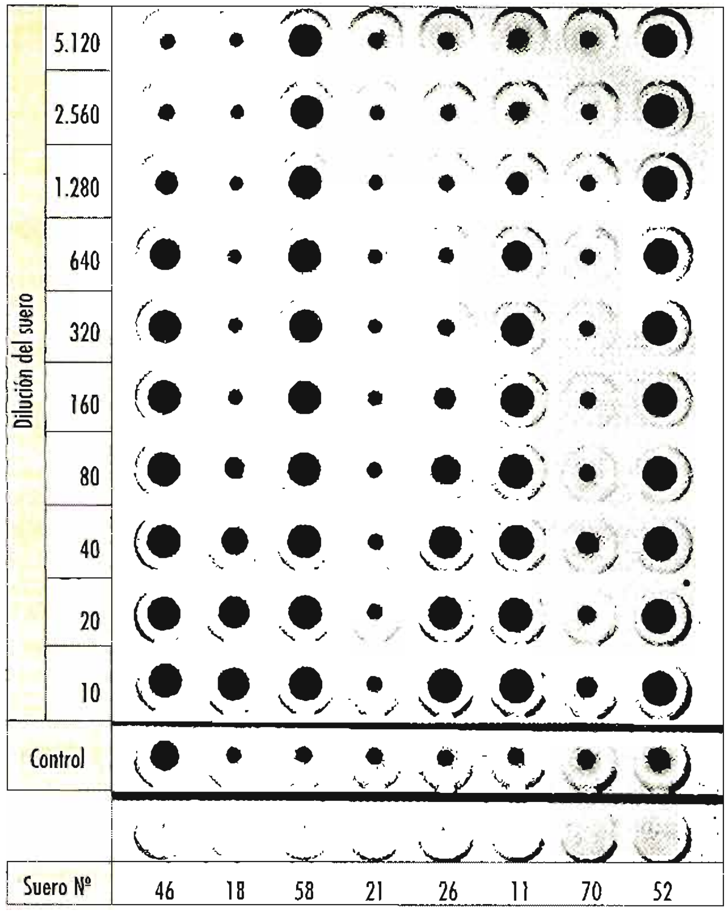


Fig. 6-9. Prueba de hemaglutinación para autoanticuerpos antitiroglobulina. Las células recubiertas con tiroglobulina fueron agregadas a diluciones de sueros de pacientes. Las células no recubiertas se agregaron a una dilución del suero 1:10 como control. En una reacción positiva, las células sedimentan como un manto sobre el fondo de la cubeta. Debido a la forma de "V" de un corte transversal de estas cubetas, en las reacciones negativas se depositan en la base de la "V" que forman un botón pequeño, reconocible con facilidad. La recíproca de la máxima dilución del suero que da una reacción positiva inequívoca se denomina título. Los títulos que se leen de izquierda a derecha son: 640, 20, > 5.120, neg, 40, 320, neg, > 5.120. El control en el caso del suero número 46 fue levemente positivo y este suero debiera probarse de nuevo luego de una absorción con células no recubiertas.

Existe una amplia variedad de reactivos marcados

A pesar de que proporcionan una extraordinariamente buena sensibilidad, los reactivos radiomarcados tienen ciertas desventajas, como la pérdida de

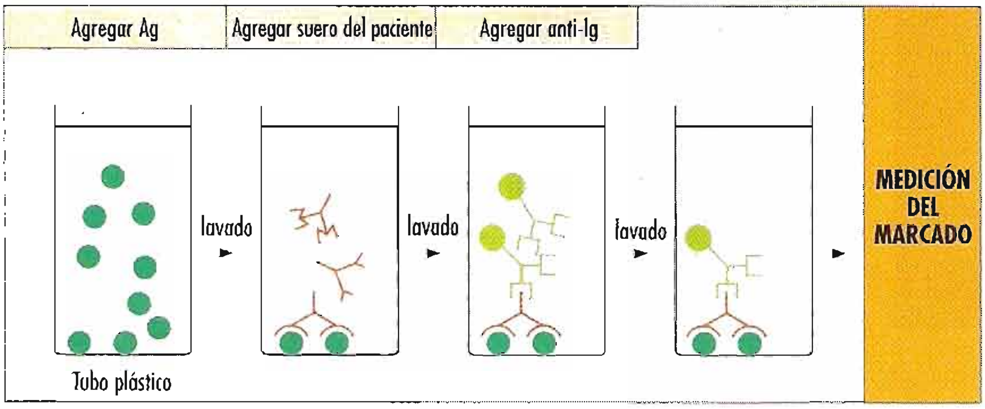

Agregar Ag
Agregar suero del paciente
Agregar anti-Ig
lavado
lavado
lavado
Tubo plástico
MEDICIÓN DEL MARCADO

Fig. 6-10. Inmunoensayo en fase sólida para anticuerpos. Para reducir la unión inespecífica de la IgG a la fase sólida después del agregado del primer reactivo, es habitual agregar una proteína irrelevante, como leche en polvo descremada o albúmina sérica bovina, para bloquear cualquier sitio libre en el plástico. Nótese que la conformación de una proteína a menudo se altera por unión al plástico, por ejemplo, el anticuerpo monoclonal que distingue entre las formas *apo* y *holo* del citocromo *c* en solución se combina bien de igual manera con ambas proteínas en fase sólida. El acoplamiento covalente al plástico carboxiderivado o la captura del sustrato antigénico por el anticuerpo en la fase sólida puede, en oportunidades, disminuir este efecto.

sensibilidad durante la conservación debido a la desintegración radiactiva, el deterioro del reactivo marcado por el daño por radiación y la necesidad de tomar precauciones para minimizar la exposición de las personas a la radiactividad. Por consiguiente, a menudo se utilizan otros tipos de marcadores en inmunoensayos.

ELISA (en inglés, *enzyme-linked immunosorbent assay; ensayo inmunosorbente ligado a enzimas*). Las enzimas que dan un producto de la reacción soluble coloreado son en la actualidad los marcadores utilizados con más frecuencia y las enzimas más empleadas son la peroxidasa de rábano (en inglés, *horseradish* peroxidase - HRP) y la fosfatasa alcalina de intestino de ternero (en inglés, *alkaline phosphatase* - AP). La glucosa oxidasa de *Aspergillus niger*, la ureasa de soja y la (-galactosidasa de *Escherichia coli* son alternativas adicionales. Una clara ventaja en la amplificación de la reacción de fosfatasa es el uso de nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADP) como sustrato para generar NAD, el que ahora actúa como una coenzima para un segundo sistema enzimático (fig. 6-11).

Otros marcadores. La proteína G estreptocócica o la proteína A estafilocócica marcadas con enzimas se unen a la IgG. Con frecuencia se utiliza la con-

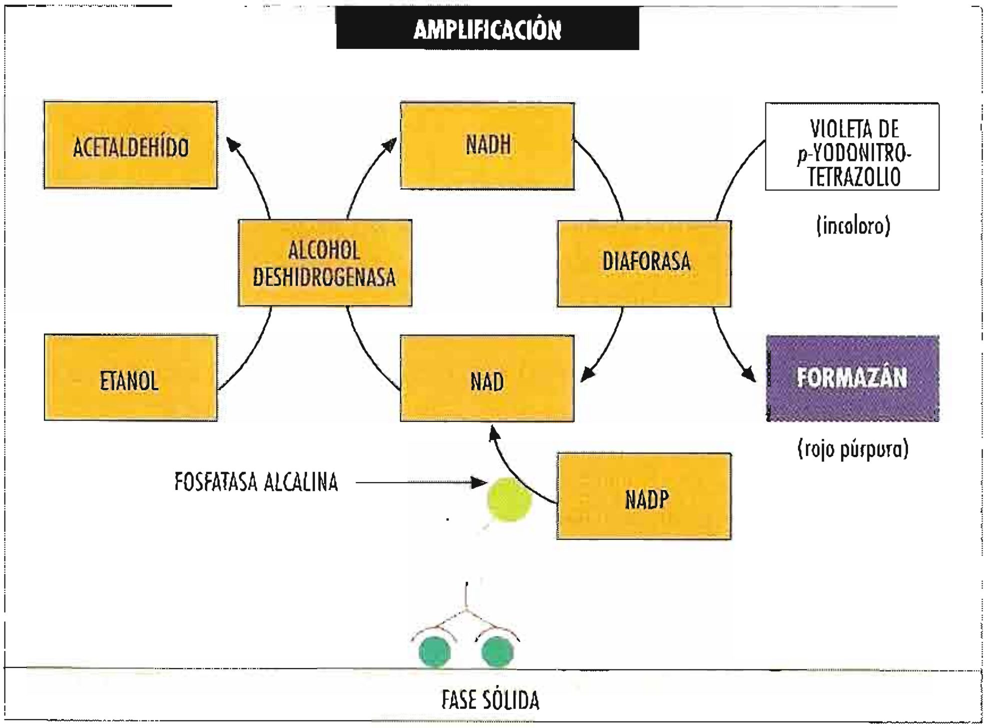

AMPLIFICACIÓN
ACETALDEHÍDO
NADH
VIOLETA DE p-YODONITRO-TETRAZOLIO
(incoloro)
ALCOHOL DESHIDROGENASA
DIAFORASA
ETANOL
NAD
FORMAZÁN
(rojo púrpura)
FOSFATASA ALCALINA
NADP
FASE SÓLIDA

Fig. 6-11. Amplificación mediada por coenzimas de la reacción de fosfatasa para revelar la marca de la antiinmunoglobulina en fase sólida.

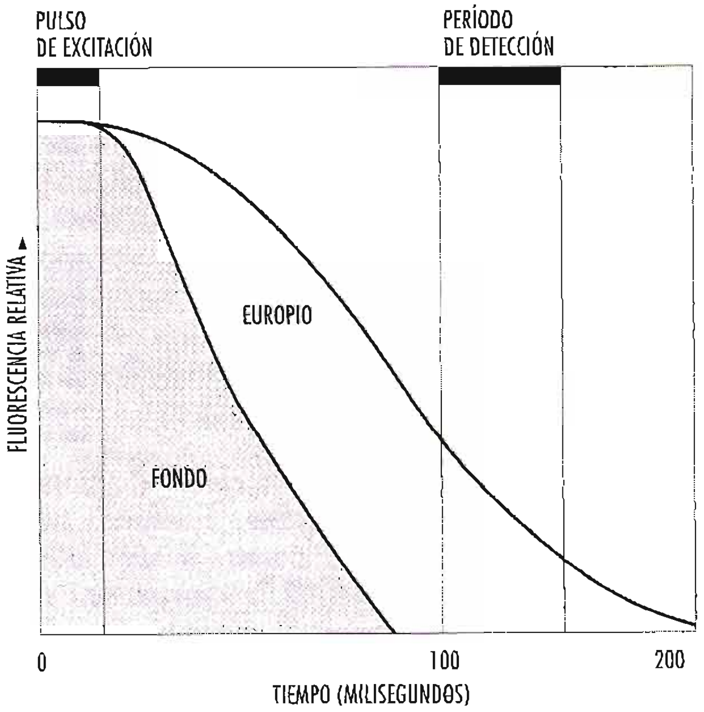


Fig. 6-12. El principio del ensayo de fluorescencia con la resolución en función del tiempo. El inconveniente de los métodos convencionales de detección de señales de baja fluorescencia es la interferencia proveniente de la reflexión de la luz incidente y la fluorescencia de fondo del instrumento. Si se utiliza sólo un corto pulso de excitación y la determinación de la señal después de que el fondo cae a cero, pero antes de que el europio con su larga vida media de fluorescencia disminuya por completo, se torna posible obtener una buena discriminación entre una señal débil y el fondo.

jugación con la vitamina biotina, dado que este conjugado puede detectarse con facilidad por su reacción con la avidina o estreptavidina ligada a enzima (esta última da un menor fondo de unión), ambas se unen con una feroz especificidad y afinidad ($K = 10^{15}\ M^{-1}$).

Los sistemas quimioluminiscentes basados en la reacción luminol incrementada por la catálisis de la HRP, donde la luz proveniente del sustrato luminol oxidado se intensifica y la duración de la señal se incrementa por el uso de un reactivo intensificador, provee mayor sensibilidad y variaciones dinámicas. Debe hacerse una mención especial a los ensayos de fluorescencia con resolución en el tiempo basados en quelatos de tierras raras como el europio 3^+ (fig. 6-12), aunque estos tienen un papel más importante en los ensayos para antígenos.

DETECCIÓN DE FORMACIÓN DE COMPLEJOS INMUNES

Se describieron muchas técnicas para detectar complejos circulantes y, debido a las variaciones en el tamaño, la capacidad de fijar el complemento y la clase de IgG de los diferentes complejos, es útil aplicar más de un método. Dos métodos bastante buenos para el uso general son:

1. Precipitación de complejos de IgG a partir del suero, en presencia de concentraciones de polietilenglicol que no reducen de manera significativa las cantidades de monómeros de IgG, seguida por la estimación de IgG en el precipitado por una simple inmunodifusión radial (*single radial immunodiffusion* - SRID) o nefelometría con láser, y
2. Unión de complejos que contienen C3b a perlas recubiertas con conglutinina bovina (véase pág. 18) y la estimación de la Ig unida con anti-Ig marcada con enzimas.

Otras técnicas incluyen: i) estimación de la unión de ^{125}I-C1q a complejos por coprecipitación con polietilenglicol, (ii) inhibición de la agregación de partículas recubiertas con IgG inducida por complejos del factor reumatoideo y (iii) detección de complejos séricos con anti-Ig radiomarcada capaces de unirse a los receptores C3b (y en menor medida al Fc) en la línea de células Raji. Los sueros provenientes de pacientes con enfermedad por inmunocomplejos a menudo forman un crioprecipitado cuando se lo deja reposar a 4ºC. La determinación del C3 sérico y su producto de conversión C3c es algunas veces útil.

Los complejos unidos a tejidos por lo común se visualizan mediante la tinción inmunofluorescente de biopsias con conjugados antiinmunoglobulinas y anti-C3 (véase fig. 16-17).

IDENTIFICACIÓN Y DETERMINACIÓN DE ANTÍGENOS

La reacción de precipitación puede realizarse en geles

Caracterización de antígenos por electroforesis e inmunofijación

Esta técnica se aplica con más frecuencia a la detección de una proteína anormal en suero u orina, por lo común una paraproteína monoclonal anormal secretada por un tumor de células B. La paraproteína se ubica como una banda compacta densa "M", de movilidad electroforética definida, y su identidad antigénica luego es revelada por inmunofijación con antisueros precipitantes específicos aplicados en tiras de papel que recubren los lados paralelos en el gel de electroforesis (fig. 6-13).

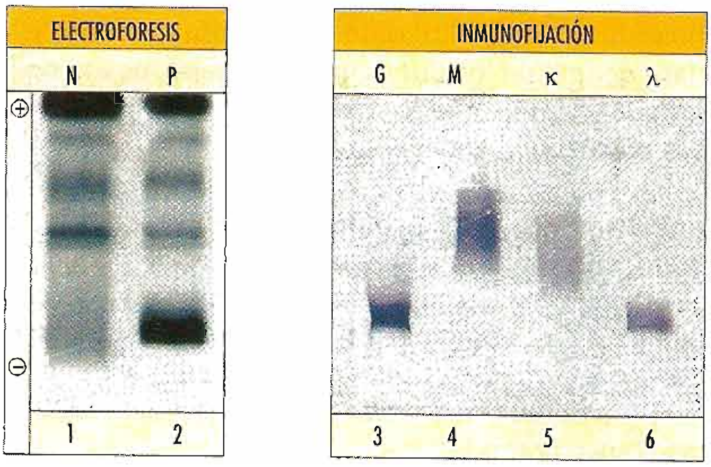


Fig. 6-13. Electroforesis e inmunofijación de una paraproteína en suero. La muestra es separada en sus bandas componentes por electroforesis en gel de agarosa y éstas se visualizan por una coloración directa después de escurrir el gel. La muestra problema también es corrida en un gel paralelo, el que luego se recubre con las tiras de papel empapadas en un antisuero específico. Los anticuerpos se difunden en el gel y "fijan" el antígeno por precipitación; después del lavado, para eliminar las proteínas solubles no precipitadas, el gel se seca y colorea para revelar la localización del complejo paraproteína-anticuerpo. N, suero normal; P, suero del paciente que muestra una banda de paraproteína compacta; G, M, κ y λ representan las inmunofijaciones con el antisuero específico para cada cadena de inmunoglobulina. En el ejemplo escogido, la paraproteína es una IgG λ . (Material amablemente proporcionado por el señor T. Heys.)

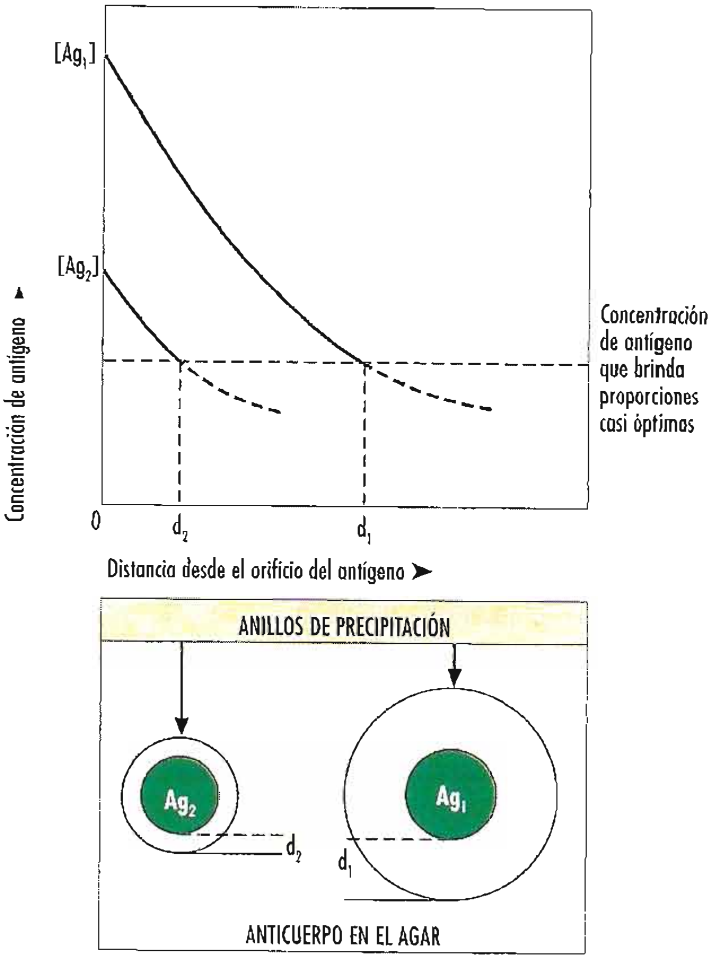

[Ag1]
[Ag2]
Concentración de antígeno ▲
Concentración de antígeno que brinda proporciones casi óptimas
0
d2
d1
Distancia desde el orificio del antígeno ➤
ANILLOS DE PRECIPITACIÓN
Ag2
Ag1
d2
d1
ANTICUERPO EN EL AGAR

Fig. 6-14. Inmunodifusión radial simple: relación entre la concentración del antígeno y el tamaño del anillo de precipitación formado. El antígeno en la concentración más alta [Ag_1] difunde más allá del orificio antes de caer en el nivel que produce precipitación con el anticuerpo cerca de las proporciones óptimas.

Cuantificación por inmunodifusión radial simple (SRID)

Cuando un antígeno difunde desde un orificio al agar que contiene el antisuero apropiado diluido, en un comienzo está presente en una concentración relativamente alta y forma complejos solubles; a medida que el antígeno difunde más, la concentración disminuye de modo continuo hasta que se alcanza el punto en el cual los reactantes están más cerca de las proporciones óptimas y se forma un anillo de precipitado. Cuanto más alta es la concentración de antígeno, mayor es el diámetro del anillo (fig. 6-14). Si se incorporan, digamos, tres estándares de concentración conocida de antígeno en la placa, puede obtenerse una curva de calibración que sirve para determinar la cantidad de antígeno en las pruebas de muestras desconocidas (fig. 6-15). El método fue utilizado de manera sistemática en inmunología clínica, en particular para las determinaciones de inmunoglobulina y también para sustancias como el tercer componente del complemento, transferrina, proteína C reactiva y la proteína embrionaria, α-fetoproteína, que se asocia con ciertos tumores hepáticos. Los laboratorios con cantidad de muestras más abundantes en la actualidad tienden a utilizar la nefelometría (véase abajo).

Ensayo nefelométrico para el antígeno

Si el antígeno se agrega a una solución con exceso de anticuerpos, la cantidad de complejos que pueden evaluarse por la dispersión de la luz en un nefelómetro (véase pág. 121) se relaciona de manera lineal con la concentración de antígeno. Con la disponibilidad de una amplia gama de anticuerpos monoclonales que facilita la estandarización del método, la nefelometría está reemplazando a la SRID para la estimación de inmunoglobulinas, C3, C4, haptoglobina, ceruloplasmina y PCR en los laboratorios favorecidos que pueden acceder al equipo apropiado. Es posible analizar muestras de volumen muy pequeño, en el orden de 1-10 µL. La turbidez de la muestra puede constituir un problema;

es posible realizar blancos carentes de anticuerpos pero una solución más satisfactoria es seguir la **proporción de formación** de complejos que es proporcional a la concentración del antígeno, dado que esto evita la necesidad de un blanco separado (fig. 6-16). Debido a que los complejos solubles comienzan a formarse en exceso de antígeno, es importante asegurar que el valor del antígeno se obtuvo en un exceso de anticuerpo mediante la corrida de un control adicional en la cual se incluye más antígeno.

Electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecil sulfato de sodio (SDS-PAGE) para el análisis de inmunoprecipitados e inmunotransferencia

Cuando las proteínas son desnaturalizadas por el SDS, cuanto más grandes son más se unen al SDS y más cargas negativas adquieren. Por eso, las proteínas de tamaño diferentes pueden separarse por electroforesis en gel como el de poliacrilamida sobre la base de su carga global.

Si uno o más antígenos son radiomarcados y el complejo con el anticuerpo agregado precipita con un reactivo anti-Ig como el estafilococo que posee proteína A, el análisis con SDS-PAGE del complejo seguido por autorradiografía debe definir la **cantidad** y los **pesos moleculares de los antígenos** involucrados (fig. 6-17).

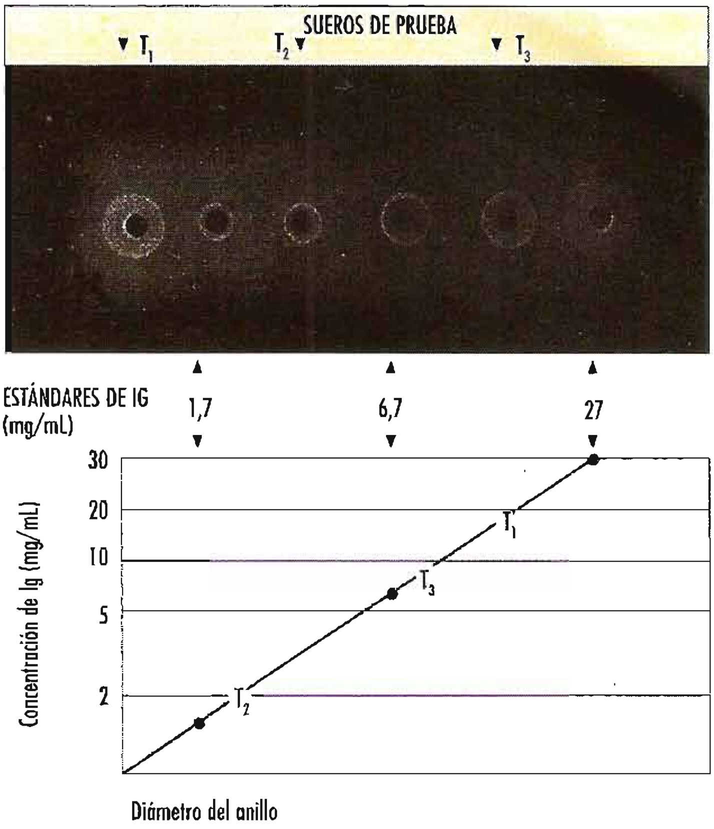


Fig. 6-15. Determinación de la concentración de IgG en suero por inmunodifusión radial simple. El diámetro de los estándares (●) permite trazar una curva de calibración y puede leerse la concentración de IgG en el suero problema:
T_1: suero proveniente de un paciente con mieloma IgG; 15 mg/mL;
T_2: suero proveniente de un paciente con hipogammaglobulinemia; 2,6 mg/mL;
T_3: suero normal; 9,6 mg/mL. (Cortesía del Profesor F.C. Hay.)

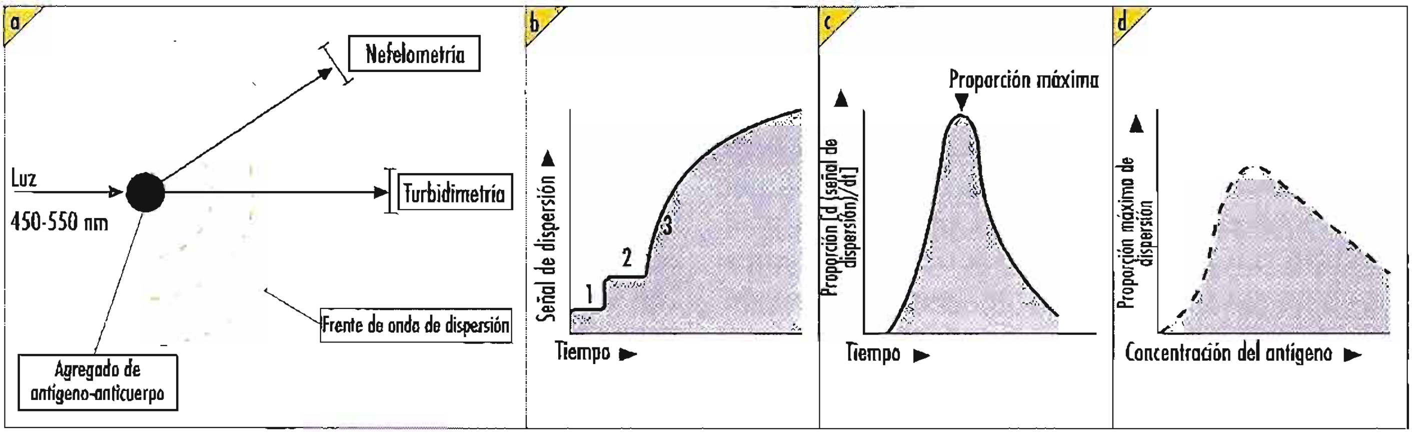

a
Nefelometría
Luz
450-550 nm
Turbidimetría
Frente de onda de dispersión
Agregado de antígeno-anticuerpo
b
Señal de dispersión
1
2
3
Tiempo
c
Proporción máxima
Proporción [d (señal de dispersión)/dt]
Tiempo
d
Proporción máxima de dispersión
Concentración del antígeno

Fig. 6-16. Nefelometría proporcional. a) Cuando se añade el antisuero, se forman pequeños agregados de antígeno-anticuerpo (véase fig. 6-2) que dispersan la luz incidente filtrada para dar una banda de longitud de onda 450-550 nm. Para la nefelometría se mide la dispersión de la luz en un ángulo aproximado de 70º. **b)** Después de añadir la muestra (1) y luego el anticuerpo (2), se determina la proporción en la que se forma el agregado (3) a partir de la señal de dispersión. **c)** Un programa (software) calcula luego la máxima proporción de dispersión de la luz que se relaciona con la concentración del antígeno, como se muestra en (d). (Copiado del manual de instrucciones del inmunonefelómetro automatizado para la reacción de proporción "Array", con autorización de Beckman Coulter Ltd.)

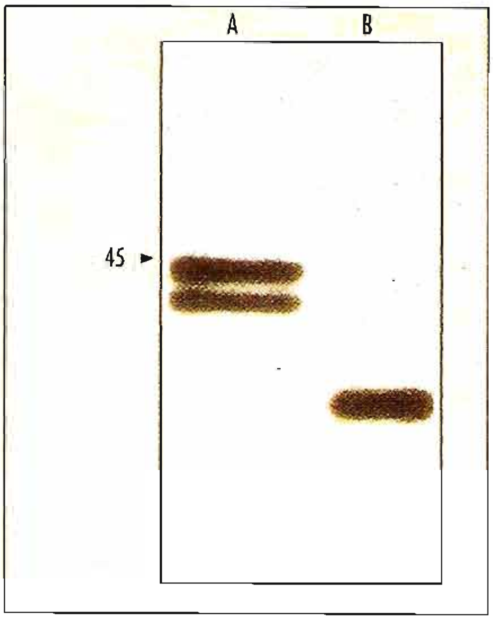


Fig. 6-17. Inmunoprecipitación de antígeno de membrana. Análisis de antígenos CMH clase I unidos a membrana (véase pág. 78). Las membranas provenientes de células humanas pulsadas con ^{35}S-metionina fueron disueltas en un detergente, mezcladas con un anticuerpo monoclonal contra moléculas HLA-A y B e inmunoprecipitadas con estafilococos. Una autorradiografía (A) del precipitado corrido en SDS-PAGE muestra las cadenas HLA-A y B como un doblete de peso molecular 43.000 (la flecha indica la posición de un marcador de 45.000). Si primero se digiere la membrana de las vesículas con proteinasa K antes de la disolución, puede detectarse una banda marcada de peso molecular 39.000 (B) compatible con una orientación transmembrana de la cadena HLA: el fragmento C-terminal hidrófilo de 4.000 Da se extiende al interior del citoplasma y la porción mayor, reconocida por el anticuerpo monoclonal y por el reactivo para tipificación del tejido, está presente en la superficie celular (véase fig. 4-11). (De los datos y autorradiografías provistas por gentileza del doctor M.J. Owen.)

Puede llevarse a cabo un **Western blot (immunoblot - inmunotransferencia)** de antígenos separados a partir de un complejo mixto por SDS-PAGE (o por electroenfoque). Éste emplea una electroforesis transversa en membranas de difluoruro de polivinilideno (PVDF) o nitrocelulosa, donde las proteínas se unen de manera inespecífica y se identifican con posterioridad por tinción con anticuerpos marcados. Es evidente que este tipo de procedimiento no actuará con antígenos que son desnaturalizados de manera irreversible por este detergente y es mejor utilizar antisueros policlonales para la transferencia, a fin de aumentar la posibilidad de incluir anticuerpos para que cualquier epítopo sobreviva al procedimiento de desnaturalización; una cantidad sorprendente lo hace (fig. 6-18). A la inversa, puede revelarse el espectrotipo por electroenfoque, transferencia y luego tinción con antígenos marcados.

Inmunoensayo de antígenos

La capacidad de establecer la concentración de un analito (es decir, una sustancia que hay que determinar) a través de la ocupación fraccional de su reactivo de unión específico es una característica de cualquier ligando-sistema de unión (hito 6-1), pero debido a que los anticuerpos pueden elevarse frente a cualquier estructura, su aplicación es más versátil en el inmunoensayo.

Los analitos de gran tamaño, como las proteínas de las hormonas, por lo común son estimadas por un ensayo no competitivo de dos sitios, en el que el fijador del ligando original y el reactivo de detección marcado son ambos anticuerpos (fig. H6-1.1). Mediante el uso de anticuerpos monoclonales dirigidos a dos epítopos diferentes en el mismo analito, el sistema posee mayor poder para discriminar entre dos analitos relacionados; si la reactividad cruzada fraccional del primer anticuerpo para un analito relacionado es de 0,1 y del segundo también es de 0,1, la lectura definitiva para la reactividad cruzada será tan baja como 0,1 × 0,1, es decir, 1%. Si se utilizan sondas quimioluminiscentes y fluorescentes con resolución en función del tiempo, se dispone de ensayos altamente sensibles para una diversidad asombrosa de analitos.

En el caso de las moléculas de tamaño pequeño como los fármacos u hormonas esteroides, en las que es impracticable la unión en dos sitios, son apropiados los ensayos competitivos (fig. H6-1.1).

Inmunoensayo en múltiples micropuntos

De manera paradójica, los puntos diminutos de anticuerpos en fase sólida no están saturados en su totalidad por los analitos en los límites de las concentraciones con las que se trabaja en la mayor parte de los inmunoensayos. En su lugar, el análisis demostró que las ocupaciones fraccionales esperadas permiten que la tecnología de inmunoensayo o cualquier otro sistema de unión específica al ligando sean opciones prácticas (Ekins), en particular con el advenimiento de sondas modernas de alta sensibilidad. Además, cuando la cantidad de anticuerpos en los micropuntos es muy pequeña, la ocupación fraccional es independiente del nivel de anticuerpo como también del volumen del analito (**principio del analito ambiental**). Las sensibilidades se comparan de modo muy favorable con los mejores inmunoensayos y, con esta miniaturización, se pueden colocar en un único dispositivo colecciones de micropuntos que capturan anticuerpos de diferentes especificidades, lo que abre las puer-

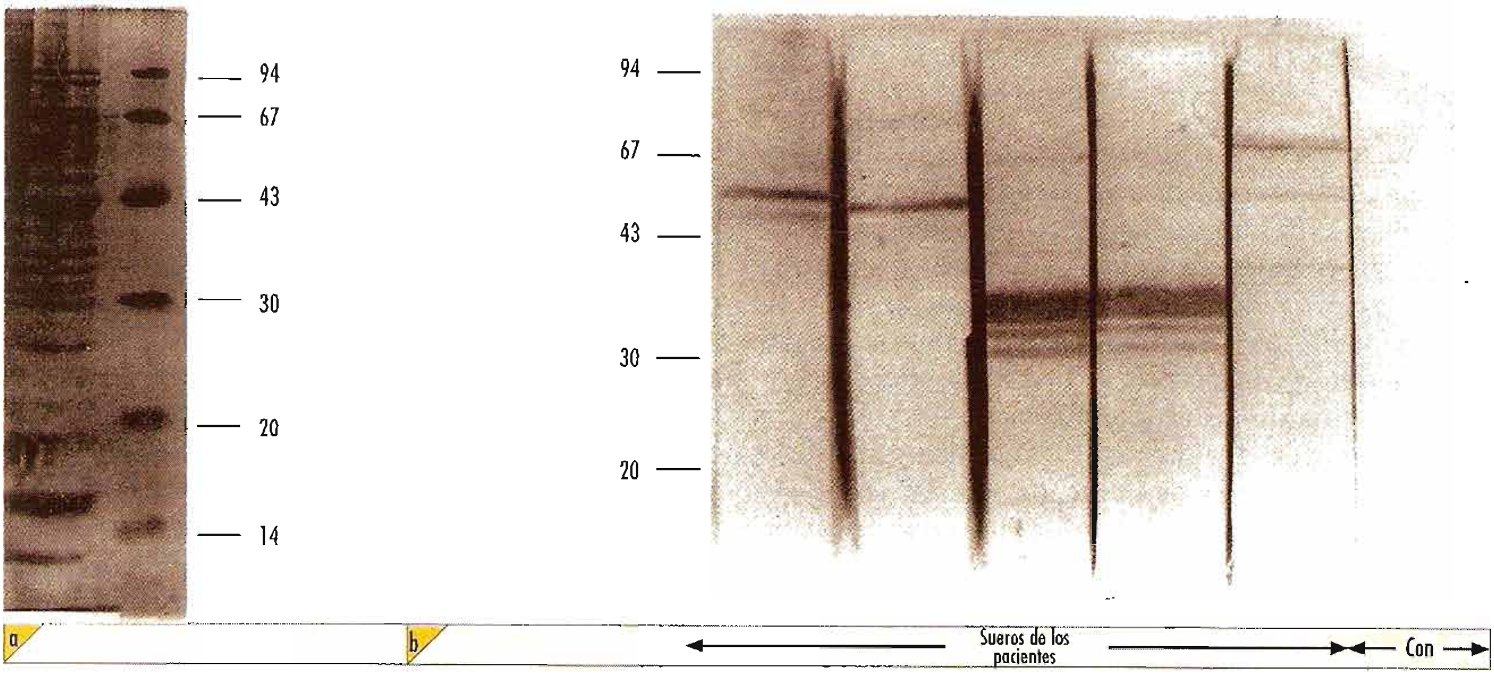


Fig. 6-18. **Análisis de Western** blot de gránulos polimorfos primarios humanos con suero proveniente de pacientes con vasculitis sistémica. Se corrió en SDS-PAGE sobrenadante posnuclear polimorfo humano. a) Gel teñido para proteínas con Coomassie Blue. Los números se refieren a los pesos moleculares de los marcadores (kDa). b) Las manchas en el gel teñido con sueros provenientes de cinco pacientes y uno control, y visualizadas por el agregado de un suero de cabra anti-IgG humana conjugado con fosfatasa alcalina. Se evidencian tres patrones diferentes de reacción de autoanticuerpos. (Imágenes provistas por gentileza de los doctores J. Cambridge y B. Leaker.) Los anticuerpos utilizados para la inmunotransferencia por lo común son marcados con enzimas o biotina (seguidas por avidina marcada con enzimas).

tas para la evaluación de múltiples analitos en una única prueba, en el que cada analito puede identificarse por las coordenadas en la colección.

Mapeo de epítopos

Epítopos de células T

En los casos en que se conoce la secuencia primaria de la proteína entera, la identificación de los epítopos de células T es comparativamente directa. Dado que estos epítopos poseen una estructura lineal, puede emplearse la síntesis en fase sólida con múltiples agujas para generar una serie de péptidos superpuestos, octámeros o nanómeros para las células T citóxicas y por lo común decámero o tetradecámero para las células T-helper (fig. 6-19), y puede interpretarse su capacidad de reaccionar con líneas o clones de células T específicas para el antígeno con el objeto de caracterizar los epítopos activos.

La extracción por disección de los epítopos de células T donde el antígeno no se ha caracterizado es una tarea más desalentadora. Pueden producirse bibliotecas de péptidos al azar, pero deben diseñarse estrategias con el objeto de mantenerlas dentro de cifras manejables. La información proveniente de datos acumulados depositados en diversos bancos de datos puede utilizarse para identificar los residuos de anclaje importantes y las bibliotecas construidas que mantienen los aminoácidos pertinentes en estas posiciones. Así, un enfoque de selección de la posición emplea una biblioteca de péptidos en la cual un aminoácido en una posición particular se mantiene constante y todos los aminoácidos diferentes se utilizan en las otras posiciones.

Epítopos de las células B

Si son epítopos de proteínas lineales formados directamente de secuencias de aminoácidos primarias, entonces la unión del anticuerpo a péptidos superpuestos individuales sintetizados como se describió antes permitirá identificarlos. Lamentablemente, la mayoría de los epítopos en las proteínas globulares reconocidas por el anticuerpo son discontinuos y esto determina que el trabajo sea más que exigente, dado que no se puede predecir cuáles son los residuos que con más probabilidad se reúnan en el espacio para formar el epítopo. En la medida que las secuencias lineales pequeñas pueden contribuir a un epítopo discontinuo, la estrategia de

Hito 6-1. Ensayos para la unión de ligandos

La observación acerca de que un ligando podía determinarse por ocupación fraccional (*F*) de su agente de unión específico impulsó una nueva categoría de ensayos sensibles de amplia aplicación. Los análisis que utilizan unión a ligandos fueron introducidos por primera vez para la determinación de la hormona tiroidea por la proteína de unión a la tiroxina (Ekins) y para la evaluación de hormonas por anticuerpos (Berson & Yalow). Estos hallazgos dieron como resultado la tecnología de radioinmunoensayo, denominada así debido a que los antígenos tenían que marcarse de alguna manera y los candidatos más convenientes para ello eran los radioisótopos.

La relación entre la ocupación fraccional y la concentración de analito [A] se da por la ecuación:

$$F = 1 - (1/1 + K[An])$$

donde *K* es la constante de asociación de la reacción de unión al ligando. *F* puede determinarse por ensayos no competitivos o competitivos (fig. H6-1.1) y relacionarse con la curva de calibración construida con cantidades estándares de analito.

En el caso de los ensayos competitivos, la sensibilidad teórica máxima está dada por el término ε/K donde ε es el error experimental (coeficiente de variación). Si suponemos que el error es del 1% y *K* es 10^{11} M^{1}, las sensibilidades máximas serán $0{,}01 \times 10^{-11}$ M $=10^{-13}$ M o 6×10^{7} moléculas/mL. En el caso de los ensayos no competitivos, los marcadores de muy alta actividad específica podrían dar sensibilidades menores de 10^{2}-10^{3} moléculas/mL en condiciones ideales. En la práctica, sin embargo, dado que la sensibilidad representa la menor concentración del analito que puede medirse contra un fondo que contiene cero analito, el error de la determinación del fondo impone una restricción esencial en la sensibilidad.

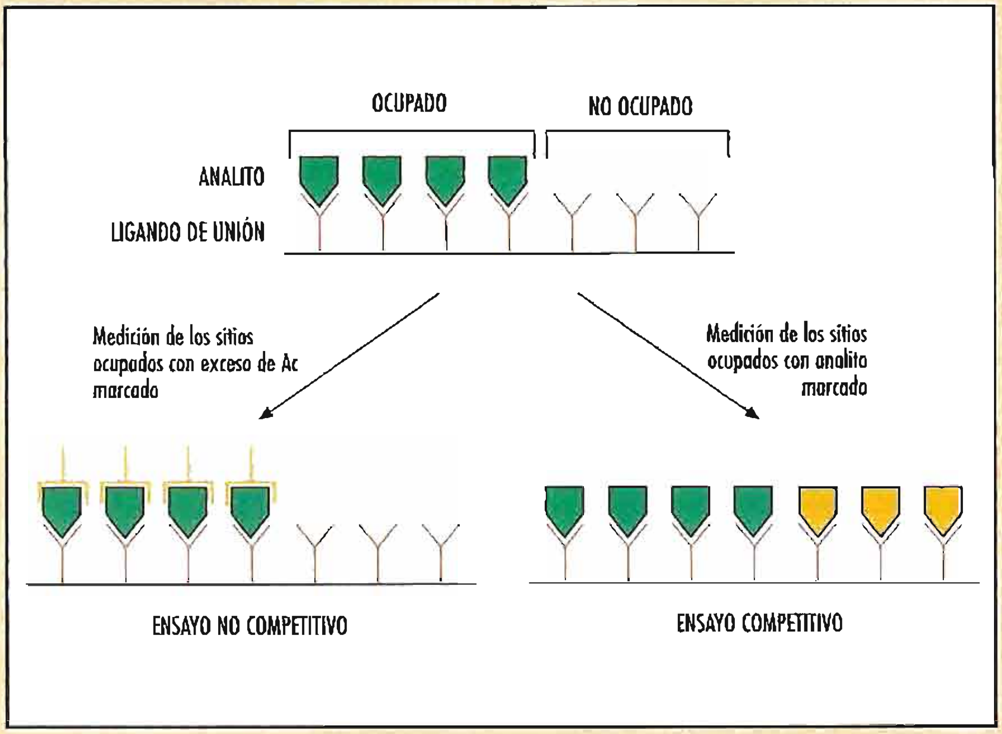

OCUPADO
NO OCUPADO
ANALITO
LIGANDO DE UNIÓN
Medición de los sitios ocupados con exceso de Ac marcado
Medición de los sitios ocupados con analito marcado
ENSAYO NO COMPETITIVO
ENSAYO COMPETITIVO

Fig. H6-1.1. El principio de los ensayos de unión de ligandos. El agente de unión de ligandos puede estar en la fase soluble o unido a un soporte sólido, como se muestra aquí. La ventaja de este último radica en la facilidad de la separación del analito unido del libre. Después de la exposición al analito, la ocupación fraccional de los sitios de unión al ligando puede determinarse mediante ensayos competitivos o no competitivos con reactivos marcados (en naranja), como se muestra.

superposición de péptidos puede proporcionar algunos indicios.

Un enfoque potencialmente prometedor a este problema de imitar los residuos que constituyen estos epítopos (denominados **mimótopos** por Geysen) es mediante la producción de bibliotecas de bacteriófagos que poseen todos los posibles hexapéptidos al azar. Éstas se producen ligando insertos

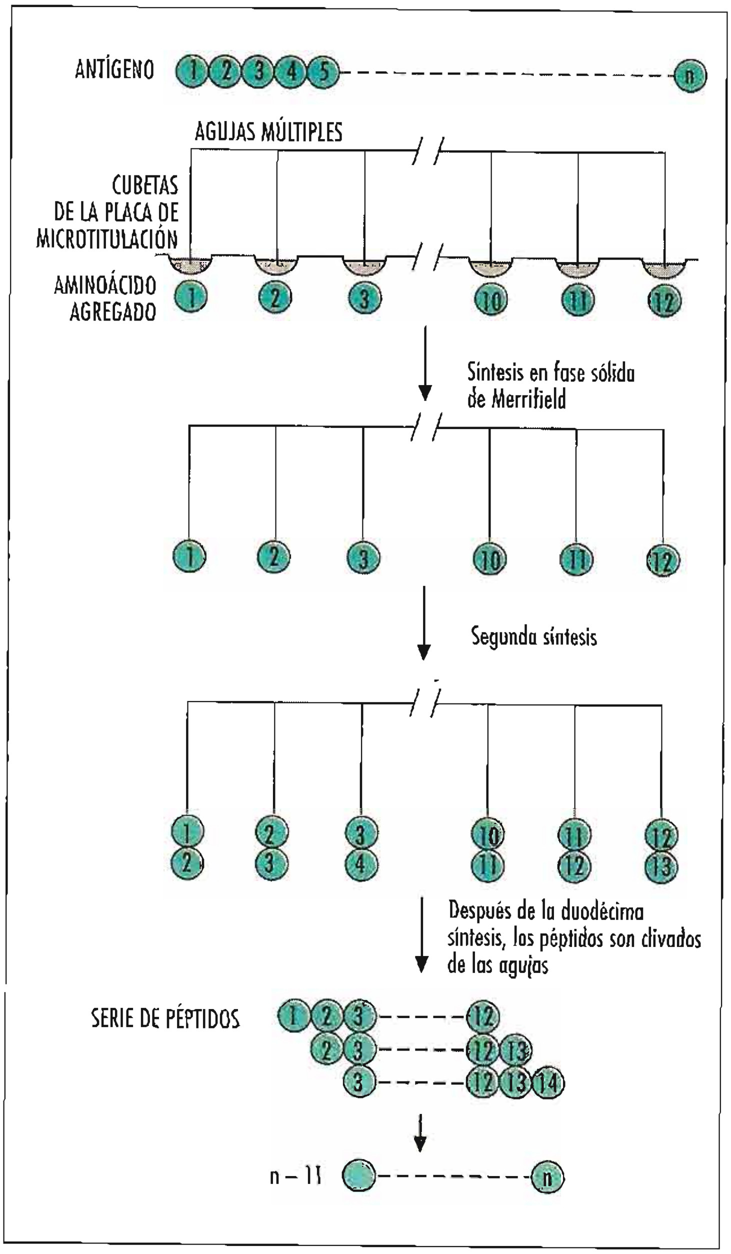

ANTÍGENO
1 2 3 4 5 n
AGUJAS MÚLTIPLES
CUBETAS DE LA PLACA DE MICROTITULACIÓN
AMINOÁCIDO AGREGADO
1 2 3 10 11 12
Síntesis en fase sólida de Merrifield
Segunda síntesis
Después de la duodécima síntesis, los péptidos son clivados de las agujas
SERIE DE PÉPTIDOS
n – 11

Fig. 6-19. Síntesis de secuencias de péptidos superpuestas para el análisis de los epítopos (PEPSCAN). Una serie de agujas, ubicadas en forma individual en las cubetas de una placa de microtitulación de 96 orificios, proporciona un sitio para la síntesis del péptido en fase sólida. Una secuencia de estas síntesis, como se muestra en la figura, proporciona los nidos de péptidos requeridos. La incorporación de un enlace fácil de clivar permite que el péptido soluble sea liberado cuando finaliza la síntesis.

de oligonucleótidos degenerados (que codifican hexapéptidos) a una proteína de cubierta del bacteriófago en un vector adecuado; la expresión apropiada en *E. coli* puede proporcionar hasta 10^9 clones diferentes. La belleza del sistema radica en que un bacteriófago que expresa un hexapéptido dado en su proteína de cubierta también posee la secuencia que codifica el hexapéptido en su genoma (véase pág. 137). De acuerdo con esto, las rondas secuenciales de selección en las que los fagos reaccionan con un anticuerpo monoclonal biotinilado y son luego colocados en una placa con estreptavidina, debieran aislar aquellos que poseen péptidos que imitan el epítopo reconocido por el anticuerpo monoclonal; luego, el estudio de la secuencia del nucleótido brindará la estructura del péptido.

Incluso los antígenos no proteináceos en ocasiones pueden ser imitados mediante el uso de bibliotecas, un ejemplo es el uso de una biblioteca de hexapéptidos de D-aminoácidos para identificar un mimótopo para la *N*-acetilglucosamina. Otros han usado una única biblioteca de cadena única Fv (scFv) para aislar un mimetismo idiotípico de un hidrato de carbono meningocócico.

ELABORACIÓN DE ANTICUERPOS POR ENCARGO

La revolución de los anticuerpos monoclonales

Primero en roedores

Un descubrimiento tecnológico fantástico fue logrado por Köhler y Milstein, quienes diseñaron una técnica para la producción clones "inmortales" de células, que elaboran una única especificidad de anticuerpo mediante la fusión de células formadoras de anticuerpos normales con una línea tumoral apropiada de células B. Estos denominados "hibridomas" son seleccionados en un medio de cultivo de tejido que no favorece el crecimiento de los tipos celulares originales y, por diluciones sucesivas o por plaqueo, pueden establecerse clones individuales (fig. 6-20). Estos clones pueden propagarse en líquido ascítico en ratones donde pueden lograrse títulos bastante importantes del anticuerpo monoclonal; pero teniendo presente el imperativo de evitar el empleo de animales siempre que sea posible, se prefiere la propagación en cultivos en gran escala. Recuérdese que, incluso en un buen antisuero, más del 90% de las moléculas de Ig poseen poca o ninguna avidez para el antígeno, y los "anticuerpos específicos" propiamente dichos representan un espectro completo de moléculas con diferente grado de avidez, dirigidas contra los diferentes determinantes del antígeno. En contraste, en los anticuerpos monoclonales todas las moléculas producidas por un hibridoma dado son idénticas: poseen la misma clase y alotipo de Ig, la misma región inconstante, estructura, idiotipo, afinidad y especificidad para un epítopo dado.

Mientras que la gran cantidad de Ig inespecífica, en relación con la específica para el antígeno

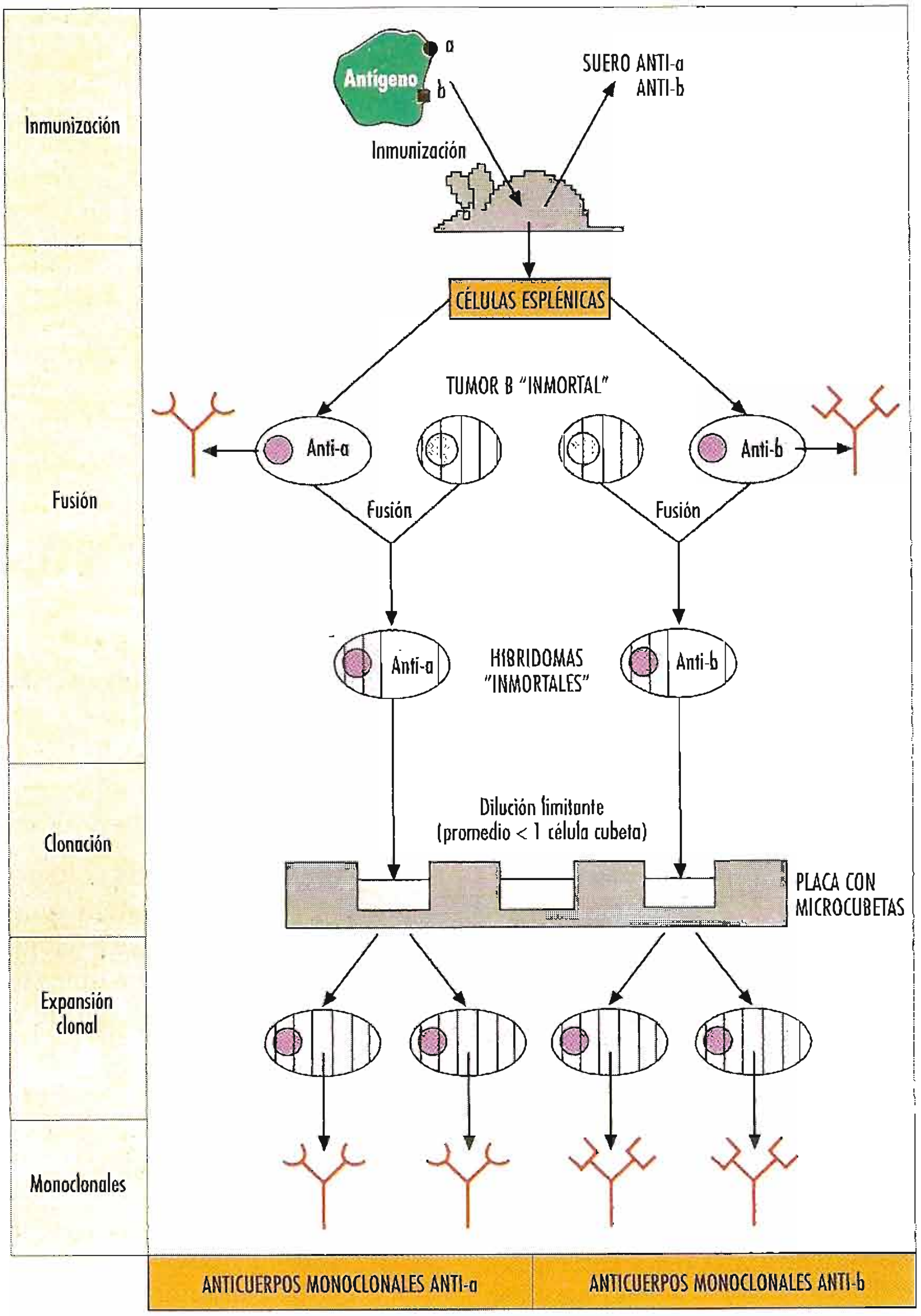

Inmunización
Fusión
Clonación
Expansión clonal
Monoclonales
Antígeno
a
b
SUERO ANTI-a
ANTI-b
Inmunización
CÉLULAS ESPLÉNICAS
TUMOR B "INMORTAL"
Anti-a
Anti-b
Fusión
Fusión
Anti-a
HIBRIDOMAS "INMORTALES"
Anti-b
Dilución limitante (promedio < 1 célula cubeta)
PLACA CON MICROCUBETAS
ANTICUERPOS MONOCLONALES ANTI-a
ANTICUERPOS MONOCLONALES ANTI-b

Fig. 6-20. Producción de anticuerpos monoclonales. Los ratones inmunizados con un antígeno que posea (digamos) dos epítopos, a y b, desarrollan células esplénicas productoras de anticuerpos anti-a y anti-b, que aparecen como anticuerpos séricos. Se extirpa el bazo y las células aisladas se fusionan, en presencia de polietilenglicol, con células de un tumor B en constante división (es decir "immortales") seleccionados por una deficiencia de enzimas purínicas y, por lo común, por su incapacidad de secretar Ig. Las células resultantes se distribuyen en placas con microcubetas en medio HAT (hipoxantina, aminopterina, timidina) que destruye la fusión de las parejas. Estas células se siembran en diluciones; en promedio, cada cubeta contendrá menos de una célula de hibridoma. Cada hibridoma, es decir el producto de la fusión de una única célula formadora de anticuerpo y una célula tumoral, tendrá la capacidad de la primera de secretar una única especie de anticuerpo y la inmortalidad de la última para proliferar en forma continua. Así, la progenie clonal puede proporcionar un aporte inacabable de anticuerpos con una única especificidad, o sea un anticuerpo monoclonal. En este ejemplo, consideramos la producción de hibridomas con especificidad para sólo dos epítopos, pero la misma técnica permite la formación de anticuerpos monoclonales contra mezclas complejas de antígenos con múltiples epítopos. Las fusiones que utilizan células de rata en lugar de ratón pueden tener ciertas ventajas, ya que dan una proporción más alta de hibridomas estables y también mejores anticuerpos monoclonales para fijar el complemento humano, un atributo útil en el contexto de las aplicaciones terapéuticas a seres humanos que involucran la depleción celular. Naturalmente, para el uso en seres humanos la solución ideal es la producción de monoclonales completamente humanos. No se encontró una amplia aceptación en la fusión de parejas de mielomas humanos, dado que tienden a tener una baja eficacia de fusión, un crecimiento deficiente y la secreción de Ig del mieloma que diluye el monoclonal deseado. Un heterohibridoma no secretor, obtenido por fusión de un mieloma murino con células B humanas, puede utilizarse como una pareja de fusión productiva por células B humanas productoras de anticuerpos. Otros grupos se transformaron como parejas de fusión murina bien caracterizados y los heterohibridomas así formados crecen bien, se clonan con facilidad y son productivos. Hay cierta inestabilidad derivada de la pérdida de cromosomas y al parecer la producción de anticuerpos se mantiene por translocación de genes de Ig humana hacia cromosomas murinos. La frecuencia de fusión es aun mayor si se utilizan líneas transformadas por el virus de Epstein-Barr (EBV) en lugar de células B.

en un antisuero, significa que la unión antigénica de base en cualquier prueba inmunológica dada puede ser en extremo alta, el problema se reduce en gran parte con la preparación de un anticuerpo monoclonal, ya que toda la Ig es anticuerpo, lo que en consecuencia brinda una relación "señal:sonido" muy superior. Por estar dirigidos a epítopos únicos en el antígeno, los anticuerpos monoclonales muestran con frecuencia una alta especificidad en lo que respecta a su baja reactividad cruzada con otros antígenos. No obstante, en ocasiones se puede observar una unión no esperada a moléculas que reacciona de modo deficiente, si lo hacen en algún grado, con un antisuero específico dirigido contra el antígeno original. La razón para este hecho ya se mencionó antes (véase pág. 98). Basta decir aquí que el problema puede evitarse mediante el empleo de un grupo de anticuerpos monoclonales superpuestos, que reaccionen con el mismo determinante o una combinación de monoclonales para más de un determinante en el mismo antígeno.

Una ventaja excelente del anticuerpo monoclonal como reactivo es que provee un único material estándar para todos los laboratorios en todo el mundo, en un aporte ilimitado si se mantiene la inmortalidad y pureza de la línea celular; por otra parte, los antisueros elaborados en animales diferentes pueden ser tan diferentes entre sí como la tiza y el queso. El enfoque monoclonal de nuevo muestra su pulcritud en relación con las estrategias convencionales para la producción de anticuerpos específicos para componentes individuales en una compleja mezcla de antígenos. Los usos de los anticuerpos monoclonales constituyen una verdadera legión: inmunoensayo, diagnóstico de procesos malignos, tipificación de tejidos, serotipificación de microorganismos, separación de tipos celulares individuales con marcadores de superficie específicos (p. ej., subpoblaciones linfocíticas), neutralización terapéutica de citocinas inflamatorias y terapéutica del "proyectil mágico" con agentes citotóxicos acoplados a anticuerpos específicos antitumorales; éstas y muchas otras áreas fueron transformadas por la tecnología de los hibridomas.

Anticuerpos catalíticos

Un desarrollo especialmente interesante, con enorme potencial, es el reconocimiento de que un anticuerpo monoclonal contra un análogo estable del estado de transición de una reacción dada puede actuar como una enzima ("abzima") y catalizar esa reacción. La posibilidad de generar enzimas por encargo promete un futuro muy atractivo y algunas maniobras químicas sumamente hábiles ya han extendido el espectro de reacciones que pueden ser catalizadas de esta manera. Una demostración reciente del clivaje de un péptido con secuencia específica con un anticuerpo que incorpora un cofactor metálico complejo aumentó el interés de los *conocedores* del tema, dado que ésta es una reacción difícil desde el punto de vista energético que posee una enorme variedad de aplicaciones. Otro enfoque innovador es inmunizar con un antígeno con el cual sea altamente posible que ocurra una reacción química en el sitio de combinación del anticuerpo. Esto recluta anticuerpos que no sólo son complementarios para la sustancia química activa, sino también es probable que posea cierto poder enzimático sobre el complejo inmunógeno-sustrato. Por esto, cuando se emplea esta estrategia se obtiene un anticuerpo con una excepcionalmente amplia especificidad por el sustrato para la catálisis eficaz de las reacciones de aldol y retroaldol. Una característica importante de este anticuerpo es la presencia de una lisina reactiva enterrada dentro de un saco hidrófobo en el sitio de unión. El anticuerpo permanece activo desde el punto de vista catalítico durante varias semanas luego de la inoculación i.v. en ratones y posee un potencial para una diversidad de terapéuticas de profármacos con enzimas dirigidas por anticuerpos (antibody-directed enzyme prodrug therapy - ADEPT, véase pág. 447), aquí con el componente enzima que es un anticuerpo catalítico.

Grandes bibliotecas de anticuerpos combinatorios, creadas por asociación al azar entre mezclas de cadenas pesadas y livianas y expresadas en los bacteriófagos (véase más abajo), pueden ser seleccionadas por los anticuerpos catalíticos mediante el empleo del sustrato en un estado de fase sólida. El clivaje por el anticuerpo catalítico deja un producto en fase sólida que ahora puede identificarse por un sistema de anticuerpo doble que utiliza anticuerpos específicos para el producto como diferenciado del sustrato.

Una área de gran interés es la presencia de autoanticuerpos catalíticos descritos en ciertos grupos de pacientes, con anticuerpos hidrolíticos contra el péptido intestinal vasoactivo, DNA y tiroglobulina. En los últimos tiempos también se descubrieron anticuerpos catalíticos capaces de producir la hidrólisis del factor VIII en pacientes hemofílicos que reciben este factor de la coagulación, los anticuerpos impiden la función de la coagulación del factor VIII.

Pueden elaborarse anticuerpos monoclonales humanos

Los anticuerpos monoclonales de ratón inoculados en sujetos humanos con fines terapéuticos son terriblemente inmunogénicos y los anticuerpos humanos antirratón (HAMA en el comercio; del inglés *h*uman *a*nti-*m*ouse *a*ntibodies) así formados son una vil molestia, ya que aceleran la depuración de los anticuerpos monoclonales de la sangre y es posible que produzcan reacciones de hipersensibilidad; también impiden que el anticuerpo del ratón alcance su blanco y, en algunos casos, bloquean su unión al antígeno. En algunas circunstancias es concebible que un anticuerpo monoclonal de ratón captado por una célula tumoral pueda ser procesado y transformado en el blanco relacionado con el CMH de las células T citotóxicas o que ayude a reforzar la respuesta contra un antígeno débil desde el punto de vista inmunogénico, localizado sobre la superficie de la célula tumoral. Sin embargo, en general la lógica apunta a la eliminación de las porciones xenogénicas (extrañas) del anticuerpo monoclonal y su reemplazo por estructuras de Ig humana mediante el empleo de tecnología recombinante de DNA. Las construcciones quiméricas, en las que los dominios V_H y V_L del ratón se empalman con los genes C_H y C_L humanos (fig. 6-21a), son mucho menos inmunogénicas en los seres humanos.

Un enfoque más refinado es injertar las seis regiones determinantes de la complementariedad (CDR) de un anticuerpo monoclonal murino de alta afinidad sobre un armazón de Ig completamente humana sin pérdida de la reactividad específica (fig. 6-21b). Sin embargo, éste no es un ejercicio trivial y el objetivo de fusionar las células B humanas para crear hibridomas todavía es atractivo, teniendo en cuenta no sólo la importante reducción de la inmunogenicidad sino también el hecho de que puedan crearse anticuerpos dentro de una especie contra diferencias sutiles, como ser complejos polimorfos del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) y antígenos asociados con tumores en otros individuos. Por el contrario, las respuestas xenogénicas están más dirigidas a estructuras inmunodominantes comunes para la mayoría de los sujetos, lo que hace más difícil la producción de anticuerpos específicos de variantes. A pesar de las dificultades para encontrar parejas con buena fusión, se establecieron grandes cantidades de anticuerpos monoclonales humanos. Surge una restricción adicional, debido a que las células B de sangre periférica, que son las únicas células B fáciles de obtener en los seres humanos, por lo común no son consideradas como una buena fuente de células B formadoras de anticuerpos.

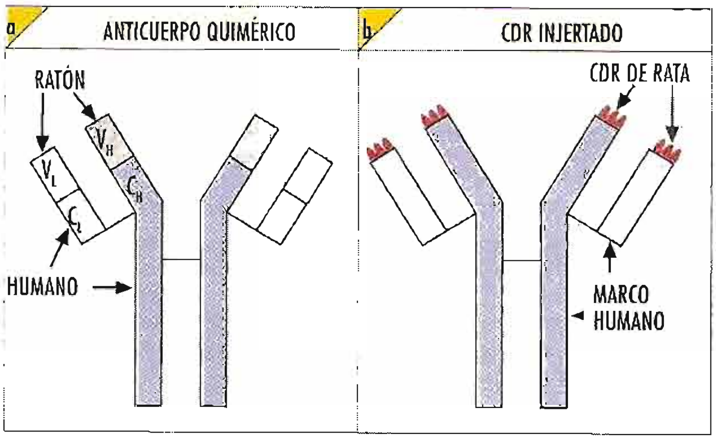


Fig. 6-21. Ingeniería genética de especificidades del anticuerpo de roedores en el ser humano. a) Anticuerpo quimérico con las regiones variables fusionadas a las regiones constantes de la Ig humana. **b)** Anticuerpo monoclonal de rata "humanizado", en el cual segmentos génicos que codifican los seis CDR son injertados en un marco de Ig humana.

Las líneas de células B inmortalizadas transformadas por el virus de Epstein-Barr también se utilizaron como una fuente de anticuerpos monoclonales humanos. Aunque a menudo éstas producen anticuerpos IgM de relativamente baja afinidad, en algunas ocasiones pueden obtenerse algunos anticuerpos IgG útiles de mayor afinidad. Las líneas celulares con frecuencia pierden su capacidad de secretar anticuerpos si son cultivados durante períodos prolongados, aunque algunas veces pueden rescatarse por fusión con una línea de células de mieloma para producir hibridomas, o los genes pueden aislarse y ser utilizados para producir anticuerpos recombinantes.

Un enfoque radicalmente diferente involucra la producción de cepas xenorratón transgénicas con loci de Ig *H* y cadena liviana κ, no ordenados por el tamaño de las megabases, fueron introducidos en los ratones cuyos genes *Ig* murinos endógenos fueron inactivados. La inmunización de estos ratones produce anticuerpos humanos de alta afinidad (10^{-10}-10^{11} M) que pueden aislarse mediante el uso de hibridomas o enfoques recombinantes. Con el empleo de estos ratones ya se han obtenido poderosos agentes antiinflamatorios (anti-IL 8) y antitumorales (antirreceptor para el factor de crecimiento epidérmico).

Aún hay un obstáculo y es que los anticuerpos humanos uniformes pueden provocar respuestas antiidiotipo; estos pueden haber sido engañados por el uso de anticuerpos obtenidos por ingeniería genética que posean diferentes idiotipos por inocu-

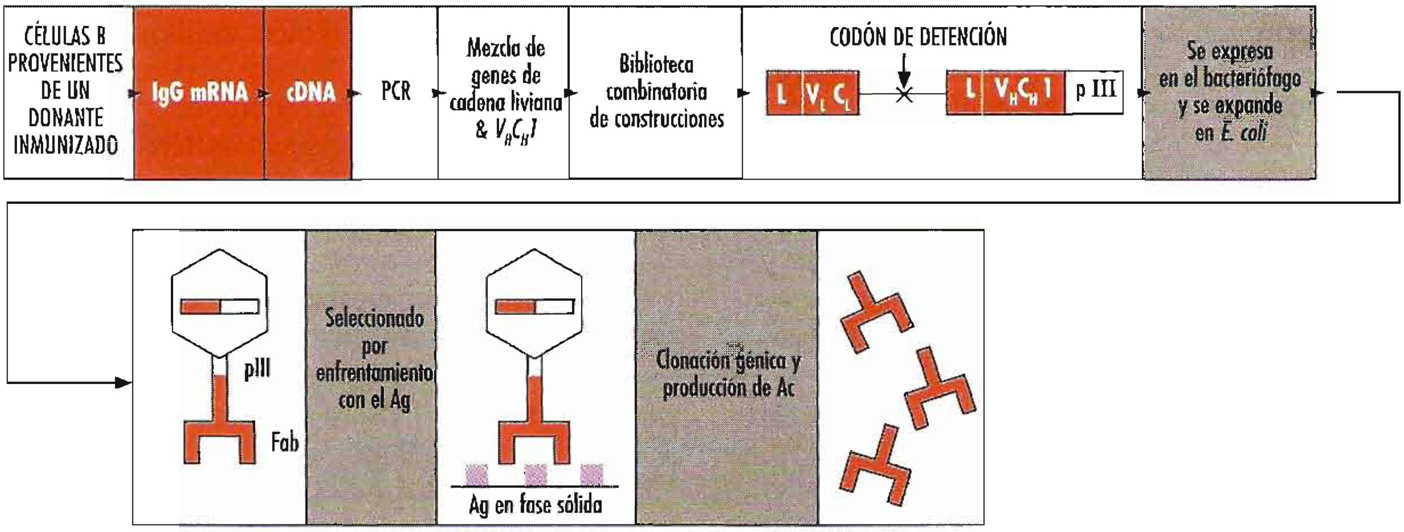

CÉLULAS B PROVENIENTES DE UN DONANTE INMUNIZADO
IgG mRNA
cDNA
PCR
Mezcla de genes de cadena liviana & V_HC_H1
Biblioteca combinatoria de construcciones
CODÓN DE DETENCIÓN
L V_L C_L
L V_HC_H1
p III
Se expresa en el bacteriófago y se expande en *E. coli*
pIII
Fab
Seleccionado por enfrentamiento con el Ag
Ag en fase sólida
Clonación génica y producción de Ac

Fig. 6-22. Selección de genes de anticuerpos a partir de una biblioteca combinatoria. Las células B de un donante inmunizado (en un importante experimento, las células de memoria de sangre periférica humana recibieron un refuerzo con el antígeno toxoide tetánico después de la transferencia a ratones SCID; Duchosal M.A. y col. (1992) *Nature* **355**,258) se utilizaron para la extracción de genes de IgG mRNA y cadena liviana (V_LC_L) y V_HC_H *l* (que codifican Fab) combinados al azar en construcciones fusionadas al gen de proteína de cubierta pIII del bacteriófago, como se muestra. Éstos fueron incorporados en fagémidos como pHEN1 y expandido en *E. coli*. Después de la infección por el fago colaborador, se seleccionaron los fagos recombinantes con la máxima afinidad mediante rondas de enfrentamiento con el antígeno en fase sólida, de modo que los genes que codifican los Fab puedan clonarse. L = secuencia bacteriana guía.

laciones subsiguientes. Aun más deseable sería si los receptores venideros primero pudieran tornarse tolerantes al idiotipo, quizá por la coadministración del anticuerpo terapéutico con un anti-CD4 que no produzca depleción.

Muchos anticuerpos monoclonales humanos están esperando el consentimiento para el uso clínico; uno puede citar IgG anti-RhD para la prevención de la enfermedad rhesus (incompatibilidad por Rh) del recién nacido (véase pág. 381) y anticuerpos monoclonales altamente potentes para la protección contra el virus varicela zoster, el citomegalovirus, los estreptococos del grupo B y el lipopolisacárido de las endotoxinas de bacterias gramnegativas.

Anticuerpos por ingeniería genética

Hay otras maneras de sortear los problemas asociados con la producción de anticuerpos monoclonales humanos, en los cuales se aprovechan ciertas argucias de la biología molecular moderna. Ya se hizo referencia a los anticuerpos "humanizantes" de roedores (fig. 6-21), pero una importante estrategia nueva, basada en la expresión y **selección** del bacteriófago, ha logrado una posición prominente. En esencia, el mRNA de las células B humanas programadas es convertido a cDNA y por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se logra la expansión de los genes de anticuerpos o de sus fragmentos. Luego se elaboran construcciones únicas en las que se permite que los genes de las cadenas liviana y pesada se combinen al azar en cascada con los genes que codifican la proteína III de la cubierta del bacteriófago (pIII) (fig. 6-22). Esta **biblioteca combinatoria,** que contiene la mayoría de los genes de las cadenas pesada y liviana, con apareamientos al azar codifica un repertorio grande de anticuerpos (o sus fragmentos) expresados como proteínas de fusión con pIII en la superficie del bacteriófago. El número sumamente alto de fagos producido por la infección de *E. coli* ahora pueden enfrentarse con antígenos en fase sólida para seleccionar aquellos anticuerpos adheridos a su superficie que poseen la máxima afinidad (fig. 6-22). Debido a que los genes que codifican estos anticuerpos de mayor afinidad ya están presentes dentro del fago seleccionado, pueden clonarse con facilidad y expresar grandes cantidades de anticuerpos. Cabe destacar que este procedimiento de **selección** tiene una ventaja enorme con respecto a otras técnicas que emplean la **detección,** porque el número de fagos que pueden examinarse es varios logaritmos mayor.

También se establecieron bibliotecas combinatorias utilizando mRNA proveniente de dadores humanos no inmunizados. Los genes V_H, V_κ y V_λ se expanden al azar por PCR y se recombinan para formar construcciones Fv monocatenarias (single chain - scFv) (fig. 6-23a) fusionadas con la pIII del fago. Se obtuvieron fragmentos solubles que se unen a una variedad de antígenos. Tienen interés especial aquellos que son autoanticuerpos contra moléculas con potencial terapéutico como CD4 y factor de necrosis tumoral–α (TNFα); los linfocitos que expresan estos autoanticuerpos no podrían obtenerse por inmunización normal, ya que es probable que se hagan tolerantes, pero las recombinaciones al azar de V_H y V_L pueden producir especificidades completamente nuevas en condiciones in vitro en las que no intervienen los mecanismos de tolerancia.

Aunque es una operación en "tubo de ensayo", este enfoque para la generación de anticuerpos específicos se asemeja a la maduración de la afinidad de la respuesta inmune in vivo (véase pág. 219) en el sentido de que el antígeno es el factor determinante en la selección de la respuesta de máxima afinidad.

Con el objeto de incrementar las afinidades de anticuerpos producidos por estas técnicas, pueden utilizarse antígenos para seleccionar los mutantes de mayor afinidad producidos por la mutagénesis al azar o incluso de modo más eficaz, por reemplazos dirigidos al sitio en las manchas calientes mutacionales (fig. 6-23b), imitando de nuevo la respuesta inmune natural que comprende la mutación al azar y la selección antigénica (véase pág. 216). La afinidad también fue mejorada por el "reordenamiento" génico en el cual un gen V_H que codifica un anticuerpo de afinidad razonable se combina al azar con una mezcla de genes V_L y es sometido a la selección del antígeno. El proceso se puede ampliar más aun mezclando el V_L proveniente de esta com-

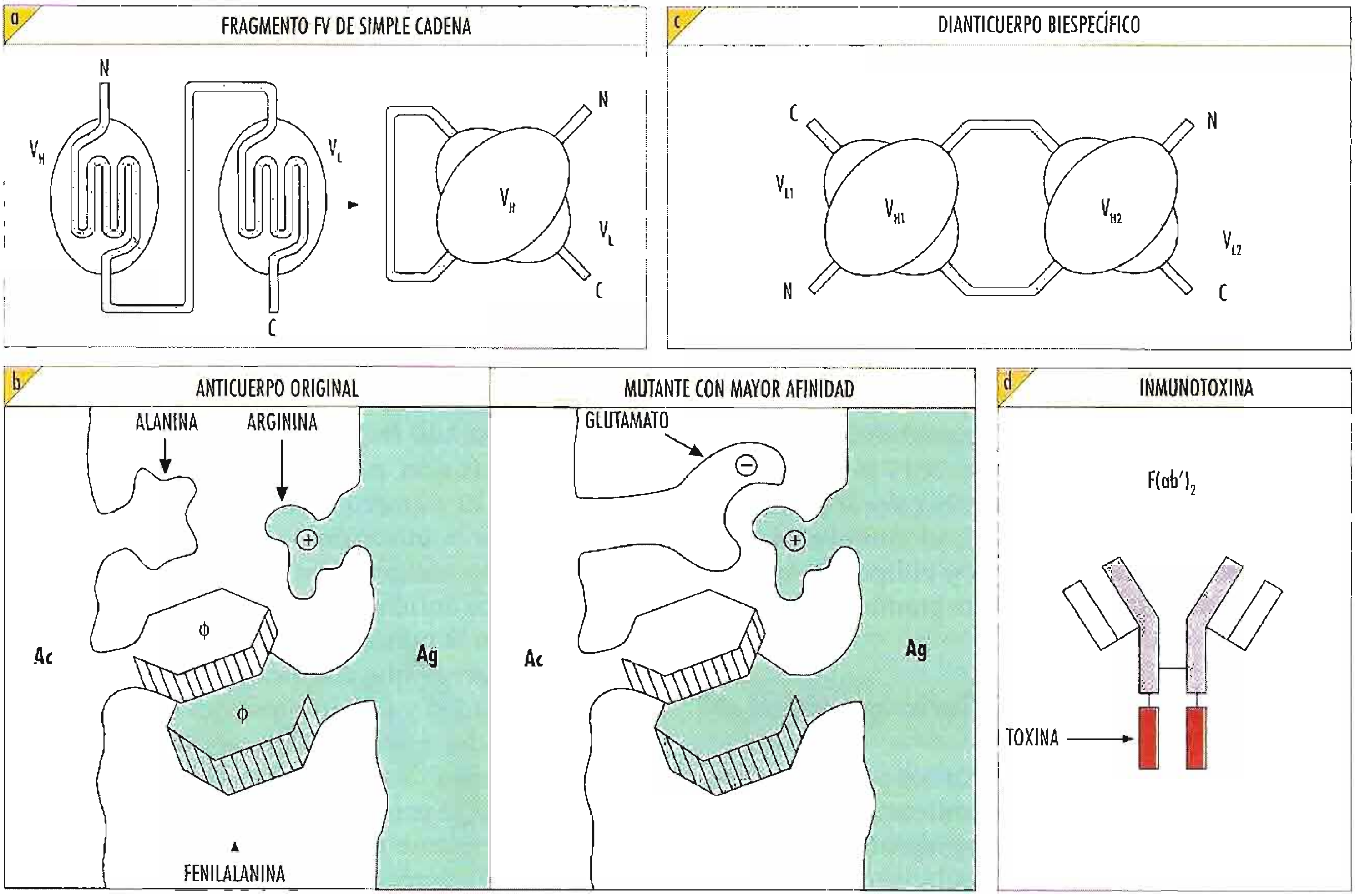


Fig. 6-23. Otros anticuerpos por ingeniería genética. a) Un gen solo que codifica V_H y V_L unido por una secuencia de longitud apropiada da origen a un fragmento de unión al antígeno de simple cadena Fv (scFv). **b)** Es posible aumentar la afinidad del anticuerpo mediante la mutagénesis específica de los residuos en la región determinante de la complementaridad (CDR) o en sus adyacencias. **c)** Dos construcciones scFv expresadas de modo simultáneo se asociarán para formar un "dianticuerpo" con dos especificidades. Estos anticuerpos biespecíficos tienen varios usos. Nótese que un anticuerpo biespecífico dirigido contra dos epítopos diferentes ubicados en el mismo antígeno tiene una afinidad mayor debido al "efecto de bonificación" de cooperación entre los dos sitios de unión (véase pág. 99). **d)** Se pueden construir posibles "proyectiles mágicos" mediante la fusión del gen para una toxina (p. ej., ricino) al Fab.

binación con una mezcla de genes V_H. También se demostró que era posible reordenar CDR individuales entre las regiones variables de anticuerpos con afinidad moderada obtenida por enfrentamiento con el antígeno, que en consecuencia crea anticuerpos de alta afinidad a partir de bibliotecas relativamente pequeñas.

Se crearon otros anticuerpos novedosos. En una construcción, dos fragmentos scFv se asocian para formar un anticuerpo con dos especificidades diferentes (fig. 6-23c). Otra consiste en un único dominio de la región variable de la cadena pesada (DAB) cuya afinidad puede ser sorprendentemente alta, del orden de 20nM. Si fuera posible superar la "glutinosidad" de estos minianticuerpos, su pequeño tamaño podría aprovecharse para la penetración en los tejidos. El diseño de "proyectiles mágicos" para la inmunoterapia puede basarse en la fusión de una toxina (p. ej., ricino) con la fracción Fab de un anticuerpo (fig. 6-23d).

Campos de anticuerpos

Los genes para un anticuerpo monoclonal no sólo pueden estar expresados en grandes cantidades en la leche de animales que lactan sino también en las plantas que pueden aprovecharse para este propósito. Los denominados "**planticuerpos**" se expresaron en bananas, papas y plantas del tabaco. Es posible imaginar un agricultor de alta tecnología que atrae la atención de un visitante confundido en un campo en el que crece toxoide antitetánico, otro polisacárido antimeningocócico, etc. Las plantas multifuncionales podrían ser bastante lucrativas, porque las raíces se cosecharían como comestibles y las hojas expresan algún producto génico deseable. ¡A este ritmo, no debe quedarles mucho por escribir a los autores de ciencia ficción!

Los fármacos pueden estar basados en los CDR de los minicuerpos

Millones de **minicuerpos** compuestos de un segmento de la región V_H que contiene tres cadenas β y los asas hipervariables H1 y H2 fueron generados por reordenamiento al azar de los CDR y expresados en la proteína de cubierta pIII del fago. Mediante el enfrentamiento de la biblioteca con los sitios de unión del ligando funcionalmente importantes, como los receptores de hormonas, pueden identificarse candidatos principales útiles para los programas de planificación de fármacos y puede mejorarse su afinidad por optimización de los asas, reordenamiento de los asas y selección posterior.

PURIFICACIÓN DE ANTÍGENOS Y ANTICUERPOS POR CROMATOGRAFÍA DE AFINIDAD

El principio es simple y su aplicación, muy amplia. El antígeno o el anticuerpo está unido a través de sus grupos aminados libres a las partículas de Sepharose activadas con bromuro de cianógeno. Por ejemplo, pueden usarse anticuerpos insolubilizados para extraer el antígeno correspondiente de la solución, en la que está presente como un componente de una mezcla compleja, por absorción a su superficie. Los residuos que no interesan son eliminados por lavado y el ligando requerido es liberado del absorbente de afinidad mediante la ruptura de los enlaces antígeno-anticuerpo por variaciones en el pH o por el agregado de iones caotrópicos como el tiocianato (fig. 6-24). Del mismo modo, puede utilizarse un antígeno inmunoabsorbente para absorber un anticuerpo a partir de una mezcla de donde puede purificarse por elución.

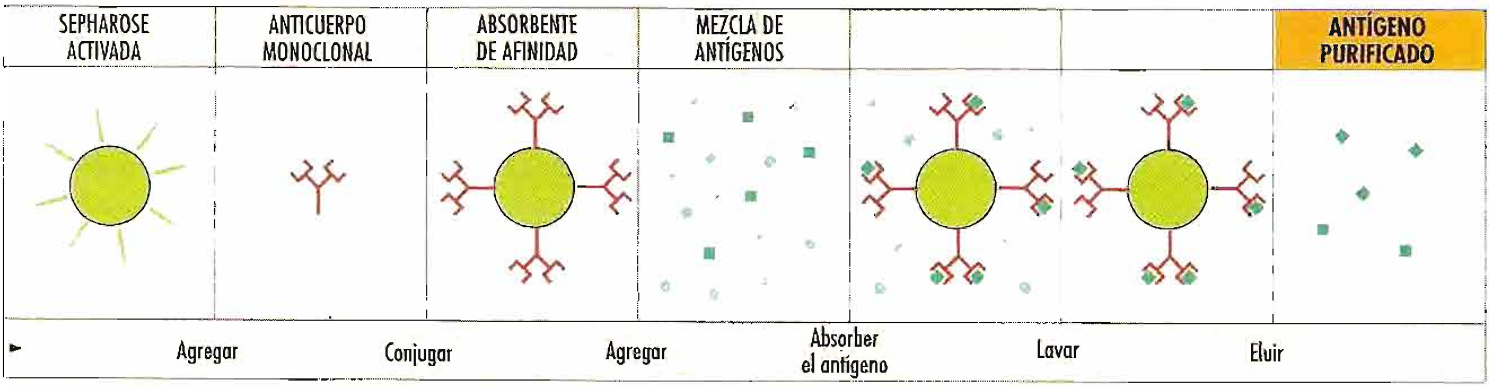


Fig. 6-24. Cromatografía de afinidad. Se llena una columna con anticuerpo ligado a Sepharose. La mezcla del antígeno se vierte a la columna. Sólo el antígeno se une y se libera mediante el cambio en el pH, por ejemplo. A la inversa, es posible utilizar una columna de afinidad ligada al antígeno para purificar anticuerpo.

NEUTRALIZACIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA

Para detectar anticuerpos

Un número de reacciones biológicas puede inhibirse por el agregado del anticuerpo específico. Así, la aglutinación de los glóbulos rojos por la interacción del virus influenza con receptores en la superficie del eritrocito puede bloquearse con anticuerpos antivirales y en esto se basa su detección serológica. Una prueba para anticuerpos contra antígenos H de *Salmonella* presentes en los flagelos depende de su capacidad para inhibir la movilidad de las bacterias in vitro. Del mismo modo, los anticuerpos contra *Mycoplasma* pueden ser demostrados por su efecto inhibitorio sobre el metabolismo de microorganismos en cultivo.

Uso de anticuerpo como inhibidor

Se describió el tratamiento exitoso de casos de sobredosis por drogas con fragmentos Fab de anticuerpos específicos y puede convertirse en una propuesta práctica si puede ensamblarse una variedad de hibridomas. Los conjugados de cocaína con la hemocianina de los moluscos gasterópodos lapa en bocallave pueden provocar anticuerpos neutralizantes. Los anticuerpos contra hormonas como la insulina y la hormona estimulante de la glándula tiroides (TSH), o contra citocinas, pueden utilizarse para investigar la especificidad de reacciones biológicas in vitro. Por ejemplo, la especificidad de la actividad tipo insulina de una muestra de suero sobre la almohadilla adiposa del epidídimo de rata puede verificarse por el efecto neutralizante de un antisuero. Estos anticuerpos pueden ser eficaces in vivo; el tratamiento con anti-TNF de pacientes con artritis reumatoidea confirmó el papel de esta citocina en el proceso mórbido. Asimismo, como parte de los esfuerzos en todo el mundo para prevenir la desastrosa superpoblación, están en marcha intentos de inmunización contra gonadotrofina coriónica mediante el empleo de fragmentos de la cadena β acoplados a transportadores apropiados, ya que esta hormona es necesaria para mantener implantado el óvulo.

En un contexto totalmente diferente, los anticuerpos elaborados contra las proteínas inhibitorias del crecimiento de los axones de las neuronas (neuritas) asociadas a la mielina revelaron su importancia en la prevención de la reparación del nervio, en el que ese tratamiento con estos anticuerpos permitió la regeneración de los axones corticoespinales después de una lesión inducida de la médula espinal en ratas adultas. Este hallazgo más que notable produjo un avance significativo en nuestra comprensión acerca de los procesos involucrados en la regeneración y sentó las bases para un cauto optimismo en lo que se refiere al desarrollo del tratamiento para el daño de la médula espinal, si bien por diversas razones éste no puede basarse en la terapéutica con anticuerpos.

RESUMEN

Estimación de anticuerpos

- El contenido de anticuerpos de un antisuero policlonal es definido en su totalidad en términos operativos por la naturaleza del análisis empleado.
- Los anticuerpos en solución pueden evaluarse por la formación de precipitados francos, que pueden intensificarse mediante electroforesis en geles con contracorriente.
- Los anticuerpos no precipitantes pueden determinarse por nefelometría con láser o por sales, o por coprecipitación de la anti-Ig con antígeno radiactivo.
- La afinidad se determina por una diversidad de métodos entre los que se incluye la resonancia plasmón de superficie, que da una medida de las proporciones de asociación y disociación.
- Los anticuerpos también pueden detectarse por aglutinación macroscópica de partículas recubiertas por el antígeno y por uno de los métodos más importante, ELISA, un procedimiento en dos fases en el que los anticuerpos unidos al antígeno en fase sólida se detectan por una anti-Ig ligada a una enzima.

Identificación y determinación de antígenos

- Los antígenos se pueden separar y su movilidad determinarse en un campo eléctrico por electroforesis e inmunofijación.

- Los antígenos pueden cuantificarse por su reacción en geles con anticuerpos mediante una simple inmunodifusión radial.
- Con frecuencia las concentraciones más altas de antígenos se determinan por nefelometría.
- Las concentraciones sumamente bajas de antígenos pueden determinarse por técnicas de inmunoensayo, que dependen de la relación entre la concentración de Ag y la ocupación fraccional del anticuerpo fijador. Los sitios ocupados son determinados con un segundo anticuerpo de alta actividad específica dirigido contra un epítopo diferente; en forma alternativa, los sitios desocupados pueden ser estimados por Ag marcado. Están desarrollándose múltiples ensayos sobre colecciones de micropuntos del anticuerpo.
- Los nidos superpuestos de péptidos provenientes de la secuencia lineal de una proteína sirve para elaborar mapas de epítopos de células T y elementos lineales de los epítopos de células B. Los bacteriófagos que codifican todos los hexapéptidos posibles en su superficie proporcionaron cierto éxito limitado en la identificación de determinantes discontinuos de células B.

Detección de formación de complejos inmunes

- Los complejos séricos pueden determinarse por precipitación con polietilenglicol, reacción con C1q o conglutinina bovina, cambios en C3 y C3c y la unión a factores reumatoideos.

Elaboración de anticuerpos por encargo

- Las líneas de células inmortales de hibridomas que elaboran anticuerpos monoclonales proporcionan poderosos reactivos inmunológicos y conocimiento de la respuesta inmune. Sus aplicaciones incluyen la enumeración de subpoblaciones de linfocitos, depleción celular, inmunoensayo, diagnóstico y formación de imágenes de cáncer, purificación de antígeno a partir de mezclas complejas y, en época reciente, el uso de anticuerpos monoclonales como enzimas artificiales (anticuerpos catalíticos).
- Los fragmentos de anticuerpos humanos por ingeniería genética pueden provenir por expansión de los genes V_H y V_L a partir de donantes no inmunizados, pero con preferencia inmunizados, los cuales se expresan como bibliotecas combinatorias completamente al azar sobre la superficie del bacteriófago. Los fagos que poseen los anticuerpos de máxima afinidad son seleccionados mediante el enfrentamiento con antígenos y luego los genes de anticuerpos se pueden clonar a partir de los virus aislados.
- Pueden crearse fragmentos monocatenarios de Fv (scFv) codificados por genes unidos V_H y V_L, e incluso dominios de la cadena pesada.
- La respuesta HAMA contra anticuerpos monoclonales murinos puede reducirse por la producción de anticuerpos quiméricos con regiones variables de los anticuerpos del ratón y regiones constantes humanas o, mejor todavía, mediante el uso de anticuerpos humanizados en los que todas las secuencias del ratón, excepto CDR, son reemplazadas por las secuencias humanas.
- Pueden inmunizarse ratones transgénicos que poseen genes de Ig humana. Los ratones producen anticuerpos de alta afinidad totalmente humanos.
- Los anticuerpos recombinantes pueden expresarse en una gran diversidad de plantas.
- Pueden utilizarse bibliotecas combinatorias de dianticuerpos que contienen V_HCDR H1 y H2 para desarrollar nuevos fármacos.

Cromatografía de afinidad

- Pueden utilizarse inmunoabsorbentes insolubles, preparados por el acoplamiento del anticuerpo a Sepharose, para purificar antígenos por afinidad a partir de mezclas complejas y, a la inversa, para purificar anticuerpos.

Neutralización de la actividad biológica

- Los anticuerpos pueden detectarse por inhibición de las funciones biológicas como infectividad viral o crecimiento bacteriano.
- La inhibición de la función biológica por anticuerpos conocidos ayuda a definir el papel del antígeno, ya sea, por ejemplo, una hormona o citocina, en respuestas complejas in vivo o in vitro.

Véanse preguntas de opciones múltiples en el sitio web correspondiente (www.roitt.com).

CAPÍTULO 7

Técnicas celulares

www.el12cirujano.blogspot.com/

Introducción, 143
Aislamiento de subpoblaciones de leucocitos, 143
  Técnicas para grandes volúmenes, 143
  Selección celular por FACS, 144
  Enriquecimiento de poblaciones específicas para el antígeno, 144
Inmunoquímica: localización de antígenos en células y tejidos, 144
  Técnicas de inmunofluorescencia, 144
  Otros métodos con anticuerpos marcados, 150
Expresión génica, 150
Evaluación de la actividad funcional, 150
  Actividad de las células fagocíticas, 150
  Capacidad de respuesta de los linfocitos, 150
  Apoptosis, 152
  Frecuencia del precursor, 152
  Cuantificación de células formadoras de anticuerpos, 152
  Análisis de la actividad funcional por reconstitución celular, 155
  Exploración de la función con anticuerpos, 156
Ingeniería genética de células, 157
  Inserción y modificación de genes en las células de mamífero, 157
  Introducción de nuevos genes en animales, 157
Resumen, 160
Lecturas adicionales, 162

INTRODUCCIÓN

Las técnicas para determinar el inmunofenotipo y la función de las células del sistema inmune son cada vez más sofisticadas. Además, es posible identificar la función de genes individuales por mutación y la creación de animales transgénicos y "por noqueo".

AISLAMIENTO DE SUBPOBLACIONES DE LEUCOCITOS

Técnicas para grandes volúmenes

Separación basada en parámetros físicos

La separación de células sobre la base de su **velocidad de sedimentación** diferencial, que de manera aproximada se correlaciona con el **tamaño,** puede llevarse a cabo por centrifugación a través de un gradiente de densidad. Es posible aumentar la masa celular mediante la unión selectiva con partículas en su superficie, como glóbulos rojos; el ejemplo más notable es la formación de rosetas cuando los eritrocitos de carnero se unen al CD2 de células T humanas.

La **densidad de flotación** es otro parámetro útil. La centrifugación de sangre entera en Ficoll- Hypaque isotónico (metrizoato de sodio) de densidad 1,077 g/mL deja las células mononucleares (linfocitos, monocitos y células natural killer (NK)) flotando en una banda en la interfase, mientras que los eritrocitos y leucocitos polimorfonucleares, que son más densos, forman un sedimento en el fondo del tubo. La **adherencia** a la superficie del plástico elimina en gran medida las células fagocíticas, mientras que el pasaje a través de columnas de lana de nailon enriquece mucho las poblaciones linfocíticas de células T a expensas de las células B.

Separación que aprovecha parámetros biológicos

Las células fagocíticas activas que captan pequeñas partículas de hierro pueden manipularse por un imán externo. Los linfocitos que se dividen como respuesta a un activador policlonal (véase pág. 183) o a un antígeno específico pueden eliminarse si se les permite incorporar 5 bromodesoxiuridina (BrdU); esto los torna susceptibles al efecto letal de la irradiación UV.

Selección por anticuerpos

Varios métodos están disponibles para la selección de células recubiertas de manera específica con anticuerpos, algunos de los cuales se ilustran en la figura 7-1. El agregado de complemento o conjugados de toxina anti-Ig eliminará estas poblaciones. Las perlas magnéticas cubiertas con anti-Ig

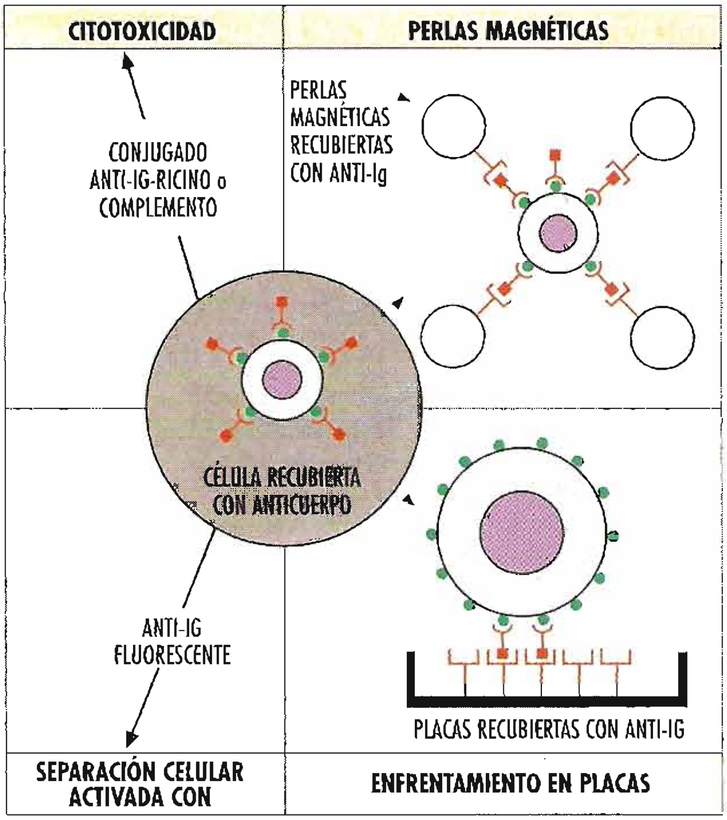

CITOTOXICIDAD
PERLAS MAGNÉTICAS
CONJUGADO ANTI-IG-RICINO o COMPLEMENTO
PERLAS MAGNÉTICAS RECUBIERTAS CON ANTI-Ig
CÉLULA RECUBIERTA CON ANTICUERPO
ANTI-IG FLUORESCENTE
PLACAS RECUBIERTAS CON ANTI-IG
SEPARACIÓN CELULAR ACTIVADA CON
ENFRENTAMIENTO EN PLACAS

Fig. 7-1. Principales métodos para las separaciones de células recubiertas con un anticuerpo específico.

forman cúmulos con las células recubiertas con el anticuerpo, los que pueden separarse con facilidad de las células no recubiertas. Otra técnica de selección útil para grandes volúmenes consiste en enfrentar las células recubiertas con anti-Ig adsorbida a una superficie. Una variante de este tema, utilizada para el aislamiento de células precursoras de la médula ósea con anti-CD34, es cubrir las células con el anticuerpo tratado con biotina y seleccionadas con una columna de avidina o perlas magnéticas con avidina.

Combinaciones de anticuerpos que recubren las perlas se utilizan en las columnas de separación de células para la depleción de poblaciones específicas que poseen, por ejemplo, linfocitos enriquecidos en CD4$^+$ CD45RA$^-$ o CD4$^+$CD45RO$^-$.

Selección celular por FACS

Las células recubiertas con anticuerpos fluorescentes se pueden separar mediante el clasificador celular activado por fluorescencia (fluorecence-activated cell sorter - FACS), como se describe en el hito 7-1 y en la figura 7-2 (véase una discusión más profunda bajo el título "Citofluorometría de flujo", pág. 147).

Enriquecimiento de poblaciones específicas para el antígeno

La expansión selectiva de células T específicas, por estimulación repetida con antígeno y células presentadoras en cultivo, por lo común alternada con tratamiento con interleucina 2 (IL-2), conduce a un enriquecimiento de células T heterogéneas específicas para los diferentes epítopos en el antígeno. Estas **líneas de células T** pueden distribuirse en las cubetas de las placas de microtitulación, en una dilución lo suficientemente alta para que **en promedio** haya menos de una célula por cubeta; cuando las células son estimuladas a proliferar con antígeno o anti-CD3 produce clones de células T individuales que pueden mantenerse con un cuidado y atención muy obsesivo; pero, ¡Dios mío pueden ser un gran fastidio! Los **hibridomas de células T** potencialmente inmortales, similares en principio a los hibridomas de células B, pueden establecerse por fusión de líneas celulares con una línea de células T tumorales y clonación ulterior.

Los animales que poseen en esencia una población de células T con una única especificidad se pueden producir mediante la introducción de genes α y β para el receptor de células T a partir de un clon de células T, como un transgén (véase más adelante); dado que los genes ya están reordenados, su presencia en cada célula T que se está desarrollando cambiará cualquiera de las otras recombinaciones del gen $V\beta$.

Nadie ha tenido éxito en la clonación de células B, excepto como hibridomas o líneas celulares transformadas por el virus de Epstein-Barr; aunque, como ocurre con las células T, se produjeron animales transgénicos que expresan el mismo anticuerpo en todas sus células B.

INMUNOQUÍMICA: LOCALIZACIÓN DE ANTÍGENOS EN CÉLULAS Y TEJIDOS

Técnicas de inmunofluorescencia

Dado que los colorantes fluorescentes, como fluoresceína y rodamina, pueden acoplarse a anticuerpos sin destruir su especificidad, el conjugado puede combinarse con el antígeno presente en un corte de tejido y visualizarse en el microscopio de fluorescencia. De esta manera puede demostrarse la distribución del antígeno en el tejido y dentro de las células. Desde otro punto de vista, el método también puede usarse para la detección de anticuerpos

Hito 7-1. Clasificador celular activado por fluorescencia (FACS)

El FACS fue desarrollado por Herzenbergs y col. para cuantificar las moléculas de superficie en las células individuales pertenecientes a la serie blanca, por su reacción con anticuerpos monoclonales marcados con fluorocromo, y para usar las señales así formadas para separar células de fenotipo definido a partir de una mezcla heterogénea.

En este elegante pero complejo aparato se hacen fluir las células fluorescentes de manera ordenada, una detrás de la otra frente a un haz de rayos láser. La determinación cuantitativa de la señal fluorescente en un tubo fotomulplicador colocado de manera adecuada retransmite una señal a la célula a medida que ella emerge en una gotita individual; la célula adquiere una carga eléctrica y puede separarse en un campo eléctrico (fig. H7-1.1). Puede introducirse una mayor sofisticación por el empleo de rayos láser y fluorocromos, y una dispersión de la luz tanto anterior como a 90º. Esto se tratará en la sección sobre citofluorometría de flujo que describe cómo puede utilizarse esta técnica para el análisis cuantitativo de múltiples parámetros de poblaciones celulares individuales (véase fig. 7-6). Basta decir que estos últimos aparatos FACS permiten el aislamiento de células con un fenotipo complejo de una población heterogénea con un alto grado de discriminación.

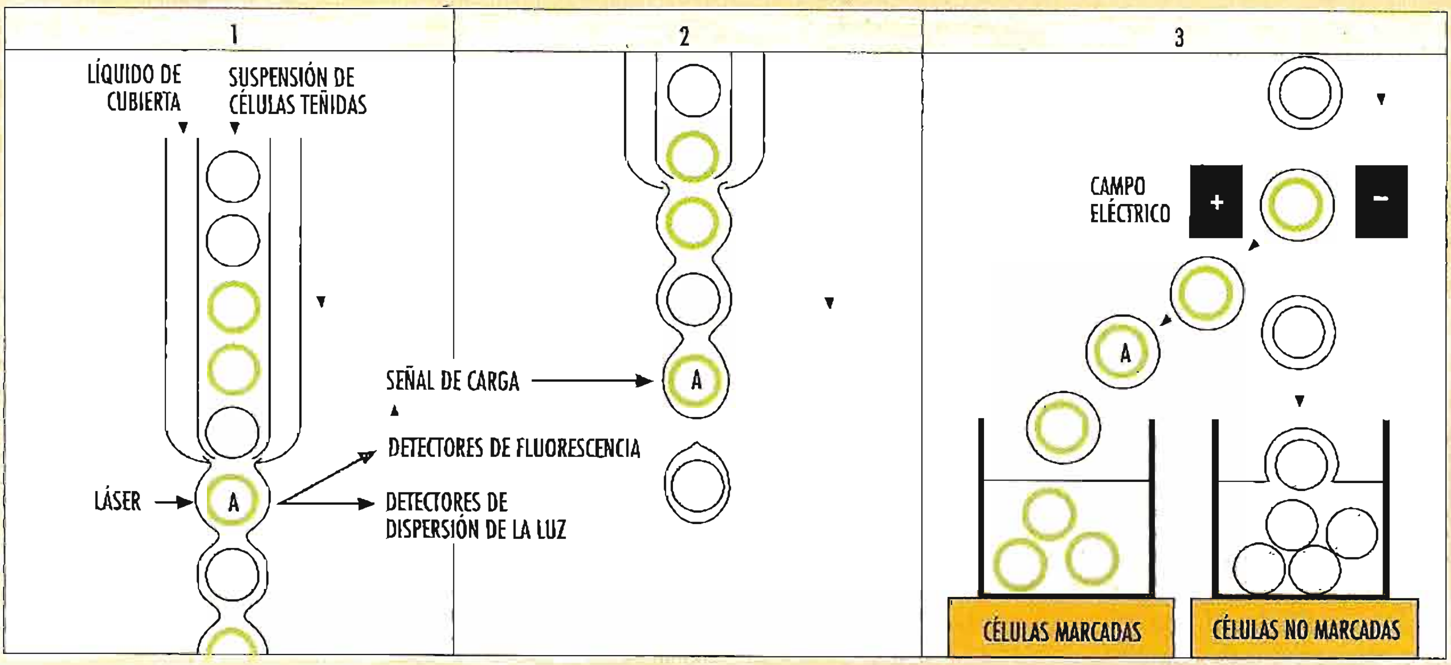


Fig. H7-1.1. El principio del FACS para la citometría de flujo de la fluorescencia en las células teñidas (círculos con anillos de color verde) y separación física de las células no teñidas. La señal de carga puede activarse para separar las células de alta fluorescencia de las de baja fluorescencia y, mediante la dispersión de la luz, las de gran tamaño de las de pequeño tamaño, y las muertas de las viables.

dirigidos contra antígenos conocidos, presentes en un corte de tejido dado o en una preparación celular. Hay dos maneras generales de llevar a cabo la prueba.

Prueba directa con anticuerpo marcado

El anticuerpo contra el antígeno tisular se conjuga con el fluorocromo y se aplica directamente (figura 7-3a). Por ejemplo, supongamos que deseamos mostrar la distribución de un autoantígeno tiroideo que reacciona con los autoanticuerpos presentes en el suero de un paciente con la enfermedad de Hashimoto, un tipo de autoinmunidad tiroidea. Nosotros aislaríamos IgG a partir del suero del paciente, la conjugaríamos con fluoresceína y la aplicaríamos a una impronta de tiroides humana en un portaobjeto. Cuando se lo observa en el microscopio de fluorescencia veríamos que el citoplasma de las células epiteliales foliculares estarían coloreadas en forma brillante (véase fig. 19-1a).

Si se utilizan dos antisueros conjugados a colorantes que emiten fluorescencia con diferentes longitudes de onda, pueden identificarse dos antígenos diferentes de manera simultánea en la misma

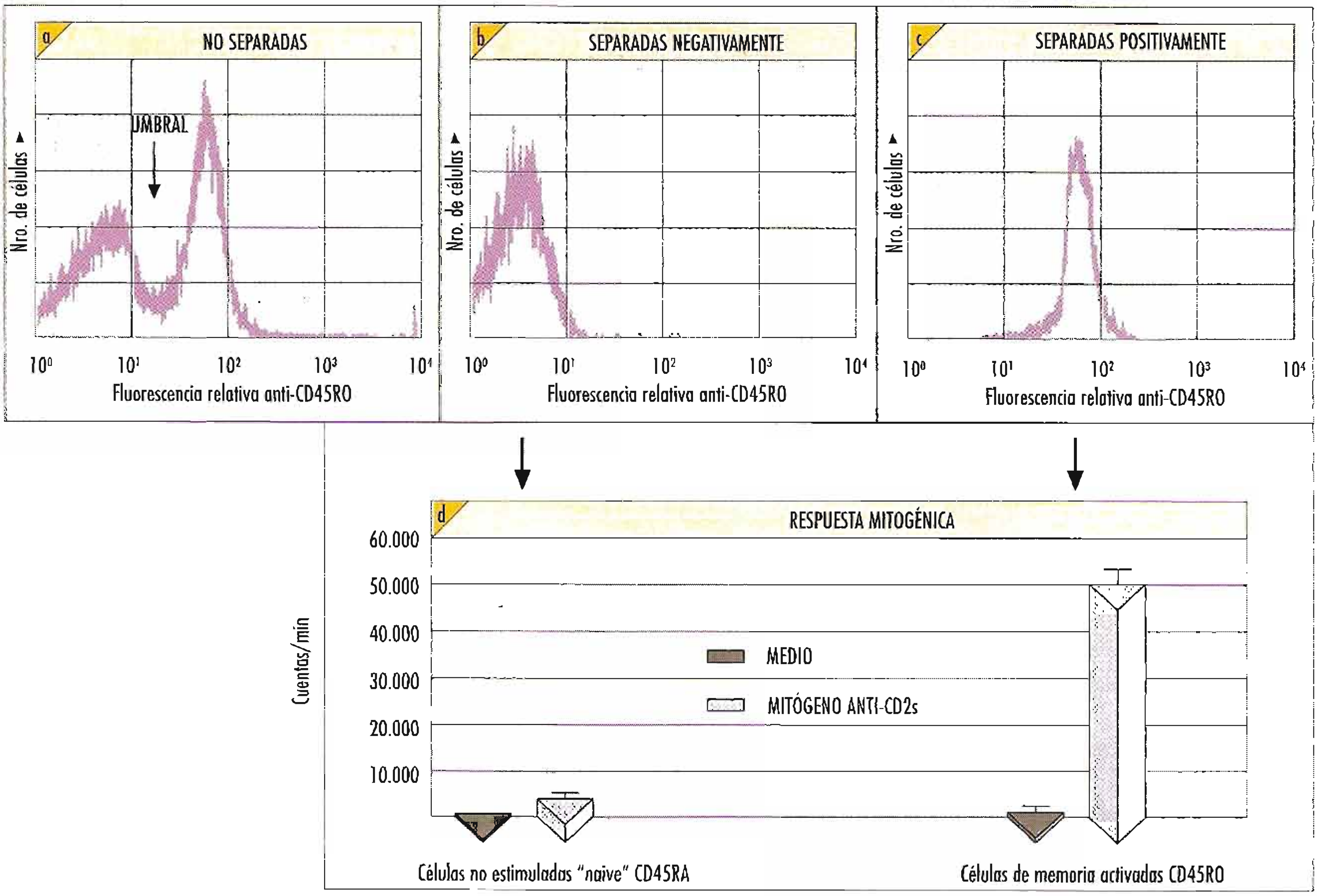


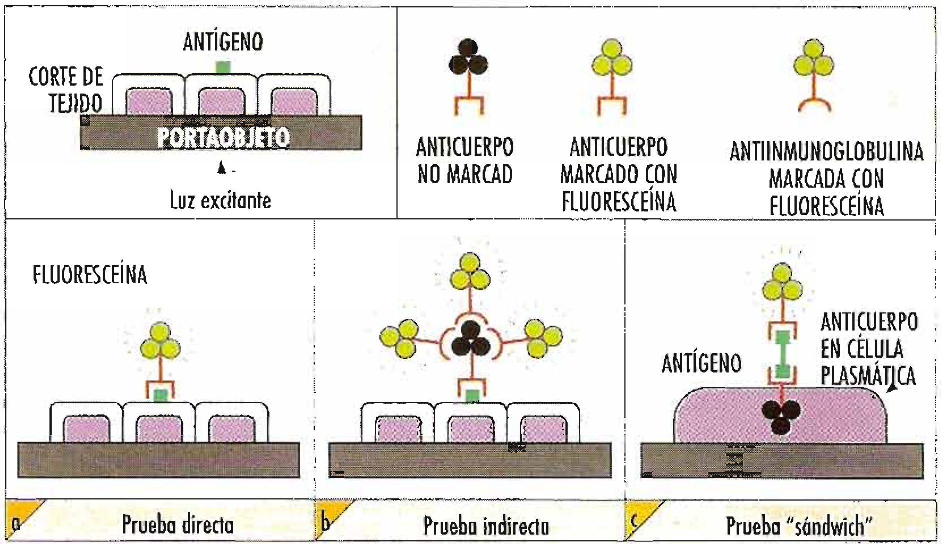
Fig. 7-2. Separación de las células T de memoria activadas de sangre periférica (CD45RO positivas) de las células T vírgenes (CD45RO negativas; pero positivas para la isoforma CD45RA) en el FACS después de teñir las células vivas en frío con un anticuerpo monoclonal fluorescente contra CD45RO (véase pág. 221). Las células no separadas mostraron dos picos (**a**); las células con intensidad de fluorescencia menor que el umbral arbitrario fueron separadas de aquellas con intensidad más alta y dieron poblaciones (**b**) negativas (CD45RA) y (**c**) positivas (CD45RO), las que fueron estudiadas en cuanto a su respuesta proliferativa para una mezcla de dos anticuerpos monoclonales anti-CD2 (OKT11 y GT2) en presencia de un 10% de células presentadoras de antígenos (**d**). Después de tres días se agregó ^{3}H-timidina y las células se contaron después de 15 h. Es claro que la población de células de memoria proliferó, mientras que la población de células no estimuladas no lo hizo. (Datos proporcionados por gentileza de D. Wallace y R. Hicks.)

preparación. En la figura 2-6e, la coloración directa de células plasmáticas fijadas con una mezcla de anti-IgG marcada con rodamina y anti-IgM conjugada con fluoresceína demuestra con claridad que estas dos clases de anticuerpos son producidas por células diferentes. A menudo se emplea la técnica de acoplamiento de biotina al antisuero y la coloración final con avidina fluorescente.

Prueba indirecta para anticuerpos

En esta técnica en doble capa el anticuerpo no marcado se aplica directamente sobre el sustrato representado por el tejido y se visualiza mediante el tratamiento con una antiinmunoglobulina conjugada con fluorocromo (fig. 7-3b). En este caso, con el objeto de averiguar si el suero de un paciente presenta anticuerpos contra las células epiteliales tiroideas o no los posee, es necesario tratar primero un corte de tejido tiroideo con el suero, lavar bien y luego aplicar suero de conejo antiinmunoglobulina humana marcada con fluoresceína; si hay anticuerpos, las células epiteliales tiroideas aparecen teñidas. Esta técnica posee varias ventajas. En primer lugar la fluorescencia es más brillante que con la prueba directa, dado que diversas antiinmunoglobulinas fluorescentes se unen con cada una de las moléculas de anticuerpo presente en la primera capa (fig. 7-3b). En segundo lugar, incluso cuando muchos sueros deben ser evaluados para anticuerpos específicos, sólo es necesario preparar (o, con

Fig. 7-3. Base de las pruebas de fluorescencia con anticuerpos para la identificación de antígenos tisulares o sus anticuerpos. ● = fluoresceína marcada.



más frecuencia, comprar) un único reactivo marcado, o sea la antiinmunoglobulina. Además, el método posee gran flexibilidad. Por ejemplo, mediante el uso de conjugados de antisueros contra cadenas pesadas individuales de la inmunoglobulina puede evaluarse la distribución de anticuerpos entre las diversas clases y subclases, por lo menos en forma semicuantitativa. También se puede determinar por fijación de complemento sobre cortes de tejido mediante el agregado de una mezcla del primer anticuerpo más una fuente de complemento, seguida por un reactivo anticomplemento fluorescente como segunda capa.

Otras aplicaciones de la prueba indirecta pueden observarse en el capítulo 19.

Alta resolución con microscopio confocal

Las imágenes fluorescentes con gran aumento son, por lo común, difíciles de resolver debido al brillo ligeramente fuera de foco por encima y por debajo del objeto. Todo esto ahora es cuestión del pasado, con el advenimiento de **microscopios de barridos confocales,** disponibles en el comercio, que centran la imagen de la fuente de un rayo láser en un plano delgado dentro de la célula y recogen la emisión de fluorescencia en un tubo fotomultiplicador (photo-multiplier tube - PMT) con una abertura confocal. La fluorescencia a partir de planos ubicados por encima y por debajo del plano del objeto no llega al PMT y por eso no se afecta la agudeza de la imagen. Una unidad de barrido X-Y permite el estudio *cuantitativo* de la totalidad del plano de la muestra y, con la óptica conveniente, pueden utilizarse dos fluorocromos diferentes de modo simultáneo. El programa informático del instrumento puede computar imágenes fluorescentes tridimensionales de una serie automática de estos barridos X-Y acumuladas en el eje Z (fig. 7-4) y rotarlas según el gusto del operador.

Citofluorometría de flujo

Los antígenos de la superficie celular pueden detectarse y localizarse por el uso de anticuerpos marcados. Dado que los anticuerpos no pueden penetrar con facilidad en las células vivas, excepto por endocitosis, el tratamiento de las células con anticuerpo marcado en frío (para minimizar la endocitosis) conduce a la coloración sólo de los antígenos en la superficie (fig. 7-2). Recuérdese también un ejemplo anterior de coloración fluorescente de la superficie de los linfocitos B con antiinmunoglobulina (fig. 2-6c).

Es posible teñir células individuales con diversos fluorocromos diferentes (fig. 7-5) y analizar las células en gotas individuales cuando fluyen a través de la sección de un **citómetro de flujo.** Esta parte del equipo es en esencia una máquina de FACS sin el clasificador de células (fig. 7-6). Estos instrumentos registran datos cuantitativos que relacionan el contenido de antígeno de la superficie y la naturaleza física de cada célula individual, con parámetros múltiples que se evalúan por célula para dar un análisis fenotípico en una única célula más que un promedio de la población (fig. 7-7). Con la impresionante cantidad de anticuerpos monoclonales y los fluorocromos disponibles, en la actualidad es posible la realización del análisis con alto grado de detalle, lo que representa una notable contribución al diagnóstico de leucemia (véase pág. 436).

También podemos investigar el *interior* de la célula de varias maneras. La permeación para permitir la penetración de los anticuerpos fluorescentes

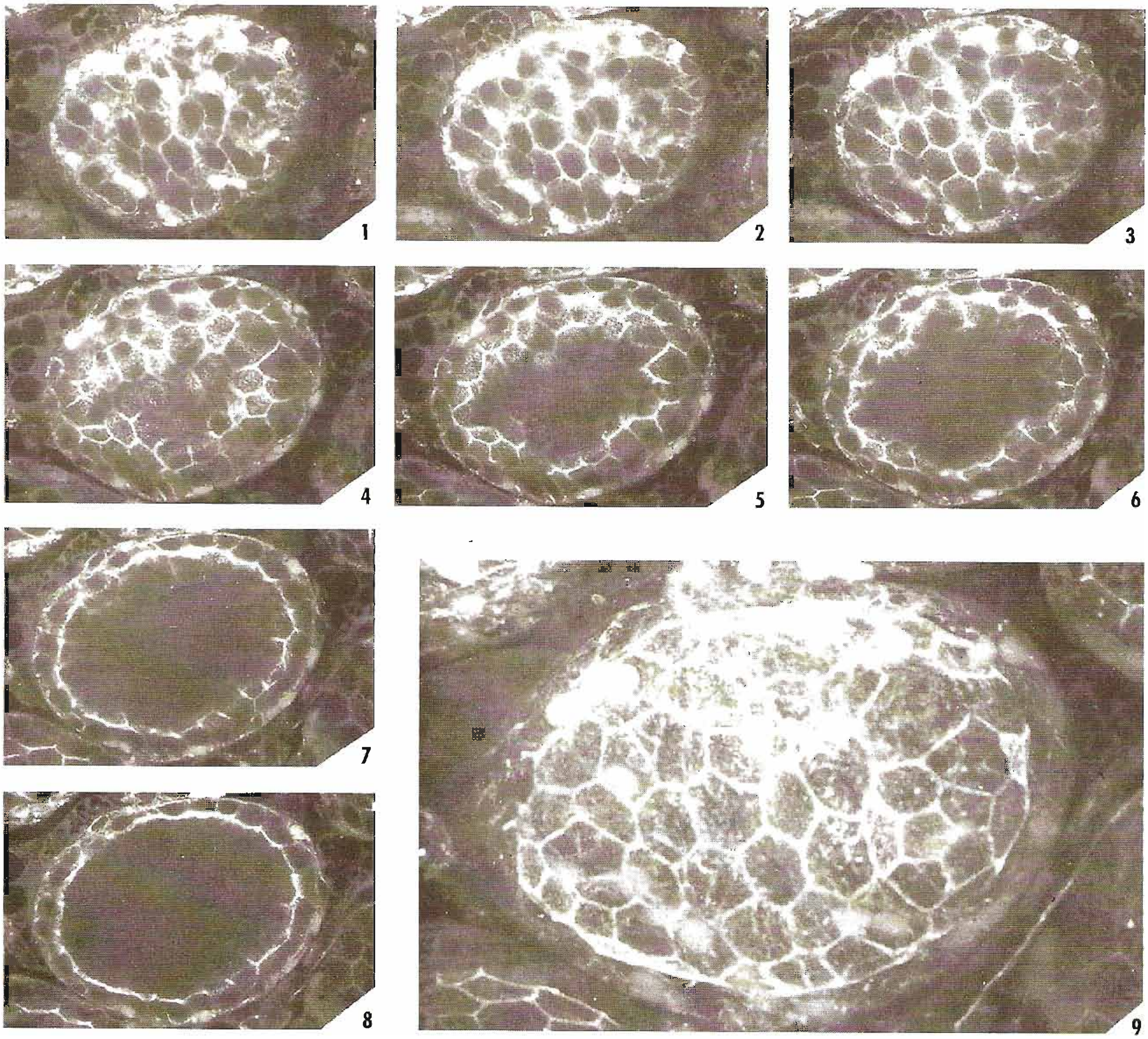


Fig. 7-4. Construcción de una imagen fluorescente tridimensional con el microscopio confocal. Un folículo tiroideo esférico en un corte grueso de tiroides de rata fijada en formalina, teñido con un conjugado de rodamina-faloidina el cual se une a la actina F (resultados similares a los obtenidos con el de los conjugados de anticuerpos). Si bien la muestra era muy gruesa, el microscopio se enfocó en planos sucesivos con intervalos de 1 μ desde la parte superior del folículo (imagen nro. 1) hasta mitad de camino (imagen nro. 8), el total de imágenes representa un hemisferio! Nótese cómo la fluorescencia en un plano no interfiere con la de los otros y que la fotografía compuesta (imagen nro. 9) de las imágenes 1-8 muestran la totalidad de la tinción fluorescente en foco en toda la profundidad del hemisferio. Es claro que el anticuerpo colorea las construcciones hexagonales cercanas a la superficie apical (interna) de las células epiteliales foliculares. Los eritrocitos se observan cerca de la parte superior del folículo. (Los negativos fueron proporcionados por gentileza de la Dra Anna Smallcombe, tomados por el personal de Bio-Rad en un sistema de formación de imágenes confocal Bio Rad MRC- 600 que utiliza material proporcionado por el profesor V. Herzog y Fr. Brix de la Universidad de Bonn.)

(de preferencia con Fab pequeño o incluso fragmentos monocatenarios Fv) proporciona una lectura de citocinas y otras proteínas intracelulares. El análisis del ciclo celular puede lograrse con un colorante unido al DNA, como yoduro de propidio, para medir el contenido de DNA y la detección de anticuerpos por incorporación de BrdU para visualizar la síntesis de DNA. Además, se han desarrollado sondas fluorescentes para determinar el pH intracelular, la concentración de tiol, Ca^{2+}, Mg^{2+} y Na^{+}.

Una herramienta analítica poderosa es la determinación de la expresión intracelular de genes, introducidos de manera artificial, que comprenden una secuencia de codificación o región reguladora de interés, fusionados a otro gen por una molécula, como la proteína fluorescente verde (green fluorescent protein - GFP), luciferasa o LacZ (β-galactosidasa de *Escherichia coli*, detectada por la hidrólisis del sustrato fluorogénico digalactósido de fluoresceína). De acuerdo con la construcción usada, el gen puede emplearse como un marcador para los estudios de desarrollo y migración o como informador bajo el control de un promotor especificado o elemento intensificador. Como un ejemplo del análisis citofluorométrico de flujo elegante que puede llevarse a cabo, el reemplazo transgénico (véase pág. 159) de genes RAG-2 endógenos con un gen de fusión RAG-2-GFP permitió el estudio de la expresión RAG-2 en linfocitos individuales cuyo fenotipo fue definido de manera simultánea por tinción con anticuerpos monoclonales.

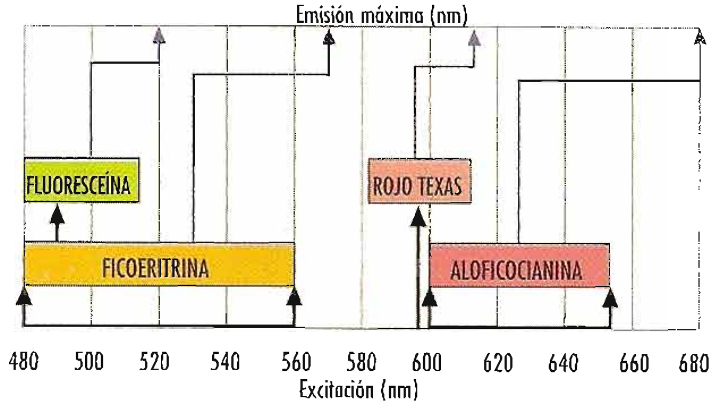


Fig. 7-5. Marcadores fluorescentes utilizados en la citometría de flujo. La onda de emisión más larga de fluoresceína se superpone con la del rojo Texas y es corregida por el programa informático. Las ficobiliproteínas de las algas rojas y cianobacterias efectúan la transferencia de energía de la luz azul a la clorofila para la fotosíntesis; cada molécula posee muchos grupos fluorescentes que permiten un amplio espectro de excitación, pero se emite la fluorescencia dentro de una banda de la longitud de onda estrecha con una eficacia cuántica tan alta como para obviar la necesidad de un segundo anticuerpo amplificador.

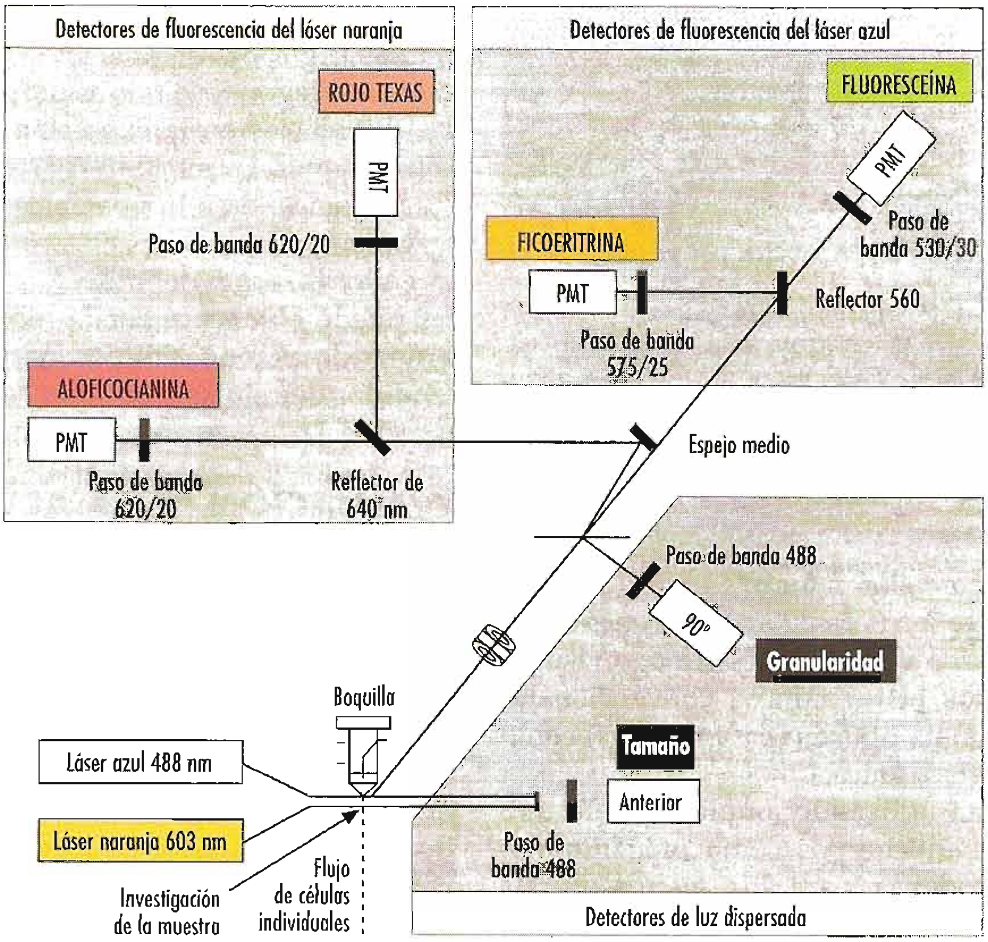

Detectores de fluorescencia del láser naranja
ROJO TEXAS
PMT
Paso de banda 620/20
ALOFICOCIANINA
PMT
Paso de banda 620/20
Reflector de 640 nm
Detectores de fluorescencia del láser azul
FLUORESCEÍNA
PMT
Paso de banda 530/30
FICOERITRINA
PMT
Reflector 560
Paso de banda 575/25
Espejo medio
Paso de banda 488
90°
Granularidad
Tamaño
Anterior
Paso de banda 488
Detectores de luz dispersada
Boquilla
Láser azul 488 nm
Láser naranja 603 nm
Investigación de la muestra
Flujo de células individuales

Fig. 7-6. Sistema óptico de citometría de flujo con seis parámetros para el análisis de la inmunofluorescencia multicolor. La fluorescencia celular excitada por el láser azul se divide en señales verdes (fluoresceína) y naranja (ficoeritrina), mientras la fluorescencia excitada por el láser naranja es reflejada por un espejo y se divide en señales casi rojas (rojo Texas) y rojas (aloficocianina). En este sistema también se mide la luz azul dispersada en pequeños ángulos anteriores y a 90º, lo que proporciona información sobre el tamaño celular y la granularidad interna, respectivamente. PMT, tubo fotomultiplicador. (Basado en Hardy R.R. (1998) En Delves P.J. & Roitt I.M. (eds) *Encyclopedia of Immunology*, 2 ed, pág., 946. Academic Press, Londres.) ¡El uso reciente de tres rayos láser y nueve fluorocromos diferentes amplía incluso más el sistema, lo que proporciona 11 parámetros!

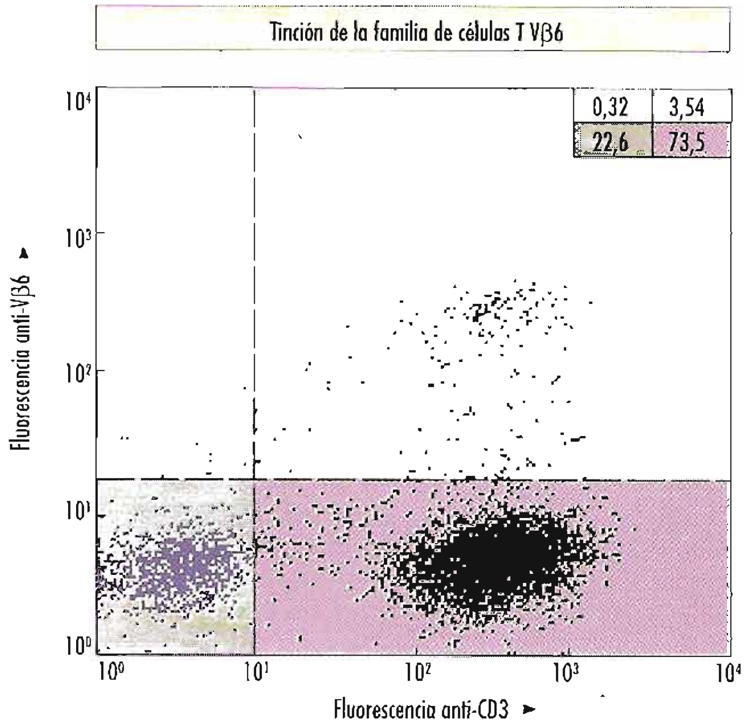


Fig. 7-7. **Análisis citofluorométrico de TCR Vβ6 usado por los linfocitos de sangre periférica humana.** Las células teñidas con anti-TCR Vβ6 fluoresceinado y conjugado de ficoeritrina anti-CD3. Cada punto representa un linfocito individual y los números se refieren al porcentaje de linfocitos que yacen dentro de los cuatro cuadrantes formados por los dos niveles de umbrales utilizados de modo arbitrario para separar los valores positivos de los negativos. Prácticamente ningún linfocito que porta receptores de células T perteneciente a la familia Vβ6 carece de CD3, mientras que el 4,6% (3,5 fuera del 77,0) de las células T maduras expresan Vβ6. (Datos proporcionados por gentileza de D. Morrison.)

Otros métodos con anticuerpos marcados

En lugar de marcadores fluorescentes, enzimas como fosfatasa alcalina (véase fig. 18-7) o peroxidasa pueden acoplarse a anticuerpos y luego visualizarse por métodos histoquímicos convencionales tanto por microscopia óptica (véase fig. 8-7f) como por microscopia electrónica.

También se está utilizando ampliamente el oro coloidal unido a anticuerpos como una inmunomarcación electrodensa para los microscopistas electrónicos. Pueden aplicarse al menos tres anticuerpos diferentes en el mismo corte mediante el marcado con partículas de oro de tamaños diferentes (véase fig. 9-13). Una nueva sonda ultrapequeña, constituida por fragmentos Fab′ unidos a cúmulos undecaaúricos, permite una localización espacial más precisa de los antígenos y su tamaño pequeño le permite marcar sitios que son inaccesibles a los inmunomarcadores de mayor tamaño. Sin embargo, la visualización clara requiere un microscopio electrónico de transmisión con barrido de alta resolución.

EXPRESIÓN GÉNICA

El RNA mensajero puede extraerse de células o tejidos y luego analizarse en manchas ("dot blot"), mediante Northern blot o PCR. El desarrollo de tecnologías de microclasificadores permite en la actualidad determinar de manera simultánea la expresión de miles de genes en un único experimento. Los oligonucleótidos o fragmentos del cDNA son colocados por medios robóticos sobre un dispositivo génico, a partir de los cuales se generan los cDNA; por ejemplo, el mRNA de células T es marcado e hibridado a los genes en el microclasificador. Esto proporciona una comparación cuantitativa de la expresión para cada gen presente en el dispositivo. Mediante la acumulación de estos datos es posible construir un cuadro completo del tipo de genes que están expresados en las diferentes células (fig. 7-8). Un área en la que esta tecnología está desplegándose con rapidez es el análisis de las diferencias en la expresión del gen entre una célula tumoral y su contraparte normal, lo que en consecuencia da a luz posibles blancos para la intervención terapéutica.

La localización del mRNA en células individuales puede obtenerse por la hibridación in situ de sondas de oligonucleótidos marcadas, ya sea en extendidos de células o en cortes de tejido.

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD FUNCIONAL

Actividad de las células fagocíticas

En el cuadro 7-1 se resumen las principales pruebas empleadas para evaluar la función de los neutrófilos.

Capacidad de respuesta de los linfocitos

Cuando los linfocitos son estimulados por antígeno o por activadores policlonales in vitro por lo común sufren mitosis (véase fig. 2-6b) y liberan citocinas. La mitosis se evalúa de manera habitual por la incorporación de ^{3}H-timidina o ^{125}I-UdR (5-yododesoxiuridina) en el DNA de las células en división.

Cuadro 7-1. *Evaluación de la función de los neutrófilos*

Función	Prueba
Fagocitosis Estallido respiratorio	Mide la captación de partículas como látex o bacterias por acoplamiento o por quimioluminiscencia
Muerte intracelular	Mide la reducción del nitroazul de tetrazolio Prueba antimicrobiana que utiliza *Staphylococcus aureus*
Migración direccional	Movimiento a través de filtros por el gradiente de concentración del agente quimiotáctico como el formil.Met.Leu.Phen
Regulación hacia arriba del LFA-1 y CR3 de superficie	Evaluación con tinción con anticuerpo monoclonal

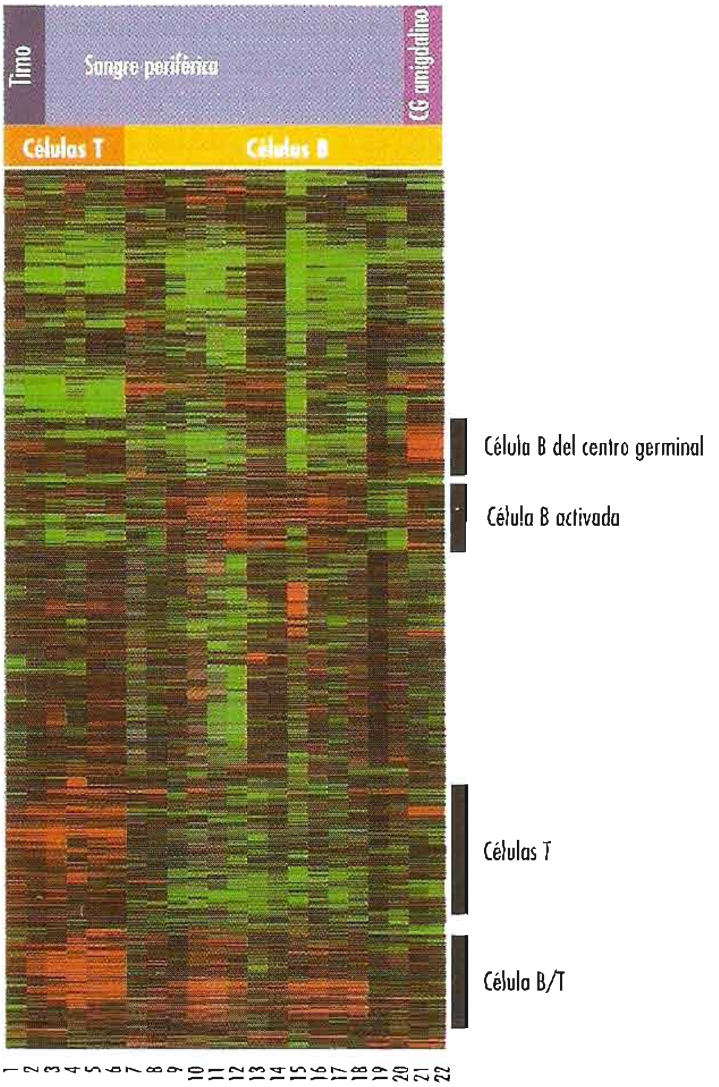


Fig. 7-8. Expresión génica durante el desarrollo y activación del linfocito. Los datos provienen de más de 3,8 millones de mediciones de expresión génica realizada en 13.637 genes que utilizan 243 microclasificadores. Cada experimento representa una población celular diferente. Por ejemplo, el experimento 1 utilizó células tímicas $CD4^+$ activadas de manera policlonal, mientras que el experimento 2 muestra la misma población antes de la estimulación. Los genes sobreexpresados o inducidos están coloreados de rojo, los genes subexpresados o reprimidos de color verde. Ciertas rúbricas de la expresión génica se vuelven aparentes en poblaciones celulares diferentes, como se indica a la derecha. Por ejemplo, la rúbrica de la expresión del gen de células T incluyen moléculas de señalización CD2, TCR, TCR y muchos citocinas. (Reproducido con autorización de los autores y editores de Alizadeh A.A. & Staudt L.M. (2000) *Current Opinión in Immunology* 12,219.)

Las citocinas liberadas en el medio de cultivo pueden medirse por inmunoensayo o por un bioensayo que emplea una línea celular dependiente de una citocina particular para su crecimiento y supervivencia. Las células individuales que sintetizan citocinas pueden cuantificarse en el citómetro de flujo mediante la permeación y tinción intracelular con anticuerpos marcados; de modo alternativo, puede aplicarse la técnica ELISPOT (véase más adelante). Como de costumbre, la biología molecular hace un aporte valioso, si bien más sofisticado, dado que las células T transfectadas con una construcción *lacZ* intensificadora de IL-2 activará la expresión de β-galactosidasa del *lac*-Z en respuesta a la citosina IL-2 (véase pág. 186); esto puede revelarse con facilidad mediante un sustrato enzimático fluorescente o cromogénico.

La capacidad de las células T citotóxicas para destruir sus blancos celulares de modo extracelular se evalúa por lo común mediante un ensayo con liberación de cromo. Las células blanco se marcan con ^{51}Cr y la liberación de proteína radiactiva en el medio por encima del observado en los controles representa el índice de citotoxicidad. La prueba se repite con diferentes proporciones de células efectoras y células blanco: Una técnica similar se utiliza para determinar la destrucción extracelular por las células NK de células blanco recubiertas con anticuerpos o de células blanco no recubiertas. Es necesario hacer una advertencia en lo que respecta a la interpretación de los ensayos in vitro. Dado que es posible manipular las condiciones de cultivo dentro de límites amplios, es posible lograr un resultado que podría no conseguirse in vivo. Permítanos ilustrar este punto por la referencia a la citotoxicidad para células murinas infectadas por el virus de la coriomeningitis linfocítica (LCMV) o el virus de la estomatitis vesicular (VSV). La técnica in vitro que mostró ser más sensible es la que utiliza la liberación de cromo de las células blanco después de la segunda estimulación de los linfocitos. Sin embargo, esto necesita 5 días, tiempo durante el cual un número relativamente pequeño de precursores de células T citotóxicas CD8 de memoria pueden reproducirse y superar el umbral exigido para producir un ensayo mensurable. No obstante, una prueba de citotoxicidad débil bajo estas condiciones no fue reflejada por ninguna de las evaluaciones in vivo de la función antiviral, lo que implica que carecen de relevancia biológica.

Apoptosis

La muerte celular programada es frecuente en el sistema inmune en varias situaciones diferentes y pueden utilizarse una diversidad de enfoques para medir las células apoptósicas. La electroforesis en gel detectará el patrón característico "en escalera" de los fragmentos de DNA generados por el clivaje internucleosómico (véase fig. 1-19). Una manera alternativa para detectar esta fragmentación del DNA, conocida como técnica TUNEL (del inglés *T*dT-mediated d*U*TP (deoxyuridine triphosphate) *n*ick *e*nd *l*abeling, marcación terminal del punto crítico con trifosfato de desoxiuridina (dUTP)), utiliza la enzima terminal desoxinucleotidil transferasa (TdT) para agregar nucleótidos marcados en los extremos 3′ de los fragmentos. Un acontecimiento más temprano en la apoptosis es la pérdida de simetría de la membrana que produce la expresión de fosfatidilserina en la superficie celular, detectada con facilidad por citometría de flujo utilizando una versión marcada, Annexin V, de su ligando. Si se dispone de medios sofisticados, pueden emprenderse análisis más detallados en los que es posible determinar componentes individuales de los mecanismos apoptósicos, como Bcl-2, Bcl-x_L, Bax, PARP (polimerasa poli(ADP-ribosa)) o procaspasas y caspasas específicas por ensayos fluorométricos o colorimétricos.

Frecuencia del precursor

La magnitud de las respuestas de los linfocitos en cultivo se relaciona estrechamente con la cantidad de linfocitos específicos para el antígeno capaces de responder. Debido a la clonalidad de las respuestas, es posible estimar la frecuencia de estos precursores específicos de antígenos por **análisis de dilución limitante**. En esencia, el método se basa en que si se toman diversas alícuotas duplicadas de una suspensión celular dada, que sería de esperar que *en promedio* contenga un precursor por alícuota, luego, el análisis de distribución de Poisson muestra que el 37% de las alícuota *no* contendrá células precursoras (a través de la aleatoriedad del muestreo). Así, si las alícuotas se realizan a partir de una serie de diluciones de una suspensión celular, se incuban en condiciones que permiten la maduración de los precursores y se reconocen mediante un esquema de amplificación, será posible conocer que la dilución en la cual el 37% de las alícuotas da respuestas negativas contiene un promedio de una célula precursora por alícuota; en consecuencia, se puede calcular la frecuencia del precursor en la suspensión celular original. En la figura 7-9 se muestra un ejemplo con cierto detalle.

Se argumentó que el análisis de dilución limitante a menudo infravalora la verdadera frecuencia del precursor. Una medida exacta del porcentaje de linfocitos que posee un receptor específico para el antígeno puede obtenerse por citometría de flujo de células teñidas con el antígeno marcado. En el caso de células B esto es bastante cierto, dado que sus receptores de antígeno reconocen el antígeno nativo. Sin embargo, sólo en los últimos tiempos esta sutileza técnica, en la forma de tetrámeros peptídicos del CMH, permitió aplicar esta metodología a las células T (fig. 7-10). Este enfoque supera el problema de la afinidad intrínseca relativamente débil del TCR para el péptido-CMH, mediante la presentación de un péptido-CMH marcado como un tetrámero multivalente, lo que en consecuencia aprovecha el efecto de bonificación de la multivalencia (véase pág. 99). Los complejos péptido-CMH se producen por permitir el replegado de las moléculas del CMH con el péptido sintético apropiado. Las moléculas recombinantes del CMH son biotiniladas en una extensión carboxiterminal especial, lo que asegura que la biotina sea incorporada en una distancia a partir del sitio en el cual se une el TCR y mezclada con estreptavidina marcada de modo fluorescente, que no sólo se une a la biotina con una afinidad muy alta sino también tiene una valencia de cuatro con respecto a la biotina, de allí a la formación de tetrámeros.

Están apareciendo numerosas adaptaciones de esta tecnología. Por ejemplo, la incubación a 37°C de los tetrámeros unidos a su TCR relacionado conduce a la internalización; mediante su marcado con una toxina pueden eliminarse los linfocitos T individuales con una única especificidad. Otro enfoque es utilizar FACS de células teñidas seleccionadas directamente en una placa de microtitulación ELISPOT en la cual se mide la secreción de citocina; esto proporciona un análisis funcional de las células.

Cuantificación de células formadoras de anticuerpos

Prueba de inmunofluorescencia "sandwich"

Éste es un procedimiento en doble capa diseñado para visualizar el anticuerpo intracelular específico.

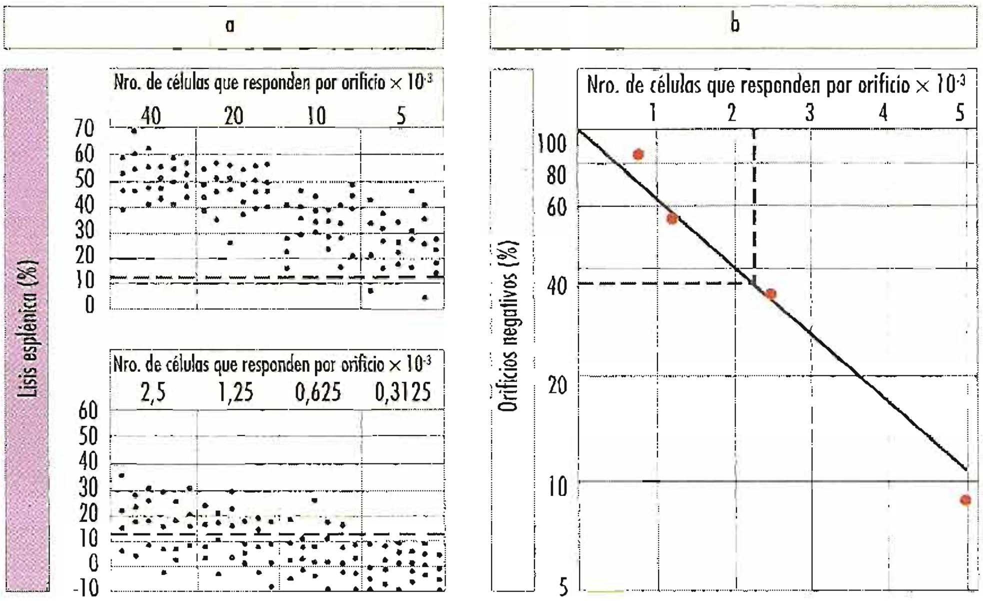


Fig. 7-9. **Análisis de dilución limitante de la frecuencia de precursores de células T citotóxicas** en células esplénicas provenientes de un ratón BALB/c estimulado con células esplénicas irradiadas de C57BL/6 como antígeno. Las células esplénicas que responden de BALB/c fueron determinadas en 24 duplicados en cada concentración probada junto con antígeno y un exceso de factores de células T helper. La citotoxicidad en cada orificio se buscó mediante el agregado de células tumorales marcadas con ^{51}Cr (EL-4) del haplotipo C57BL/6; la citotoxicidad se reveló luego por la determinación de la liberación del material intracelular soluble marcado con ^{51}Cr en el medio. **a)** Los puntos muestran el porcentaje de lisis específica de los orificios individuales. La línea punteada indica tres desvíos estándares por encima del control liberado al medio y cada punto sobre esa línea se cuenta como positivo para citotoxicidad. **b)** Los datos graficados de nuevo en términos de porcentaje de los orificios negativos a cada concentración de células que responden por encima de los límites en los que se titularon los datos (5 × 10^{-3}/orificio a 0,625 × 10^{-3}/orificio). La línea punteada está dibujada en el 37% de los orificios negativos y ésta corta la línea de regresión para dar a una frecuencia de precursores (T_{cp}) de 1 en 2.327 células que responden. La línea de regresión tiene un valor r^2 de 1,00 en este experimento. (Reproducido con autorización de Simpson E. & Chandler P. (1986). En Weir D.M. (ed.) *Handbook of Experimental Immunology*, fig. 68-2. Blackwell Scientific Publications, Oxford.)

Por ejemplo, si deseáramos ver cuántas células en una preparación de tejido linfoide estaban sintetizando anticuerpos contra el polisacárido neumocócico, primero deberíamos fijar las células con etanol para evitar que el anticuerpo sea arrastrado con el lavado durante la prueba y luego tratar el extendi-

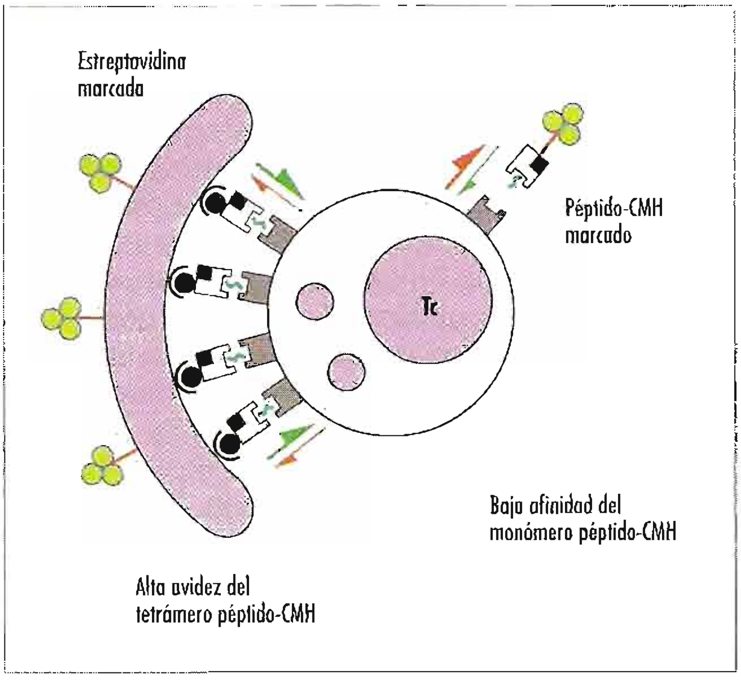
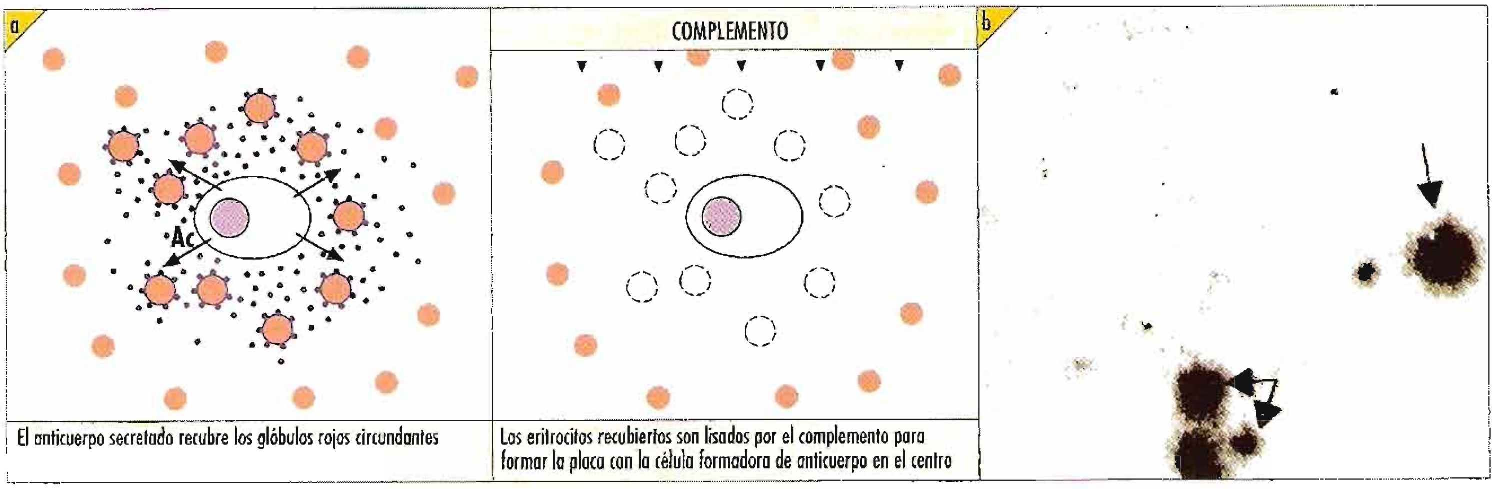

Estreptavidina marcada
Péptido-CMH marcado
Tc
Baja afinidad del monómero péptido-CMH
Alta avidez del tetrámero péptido-CMH

Fig. 7-10. **Tetrámero péptido-CMH.** Un único complejo péptido-CMH marcado con fluorocromo (arriba, a la derecha) sólo presenta una baja afinidad para el TCR y, en consecuencia, proporciona una sonda insensible para su receptor análogo. Sin embargo, por biotinilación (●) de las moléculas del CMH y mezclándolas luego con estreptavidina, que tiene una valencia de cuatro con respecto a la unión de la biotina, se forma un complejo tetramérico que posee una afinidad funcional mucho más alta (avidez) cuando se utiliza una sonda para los TCR específicos en la superficie de la célula T.



El anticuerpo secretado recubre los glóbulos rojos circundantes

Los eritrocitos recubiertos son lisados por el complemento para formar la placa con la célula formadora de anticuerpo en el centro

Fig. 7-11. Técnica de placas de Jerne para cuantificar las células formadoras de anticuerpos (modificación de Cunningham). a) Se muestra la técnica *directa* para células que sintetizan hemolisina IgM. La técnica *indirecta* para la visualización de células productoras de hemolisinas IgG requieren el agregado de anti-IgG al sistema. La diferencia entre las placas obtenidas por los métodos directo e indirecto dan el número de placas "IgG". El ensayo de *placas inversas* cuantifica las células que producen Ig total por la captura de la Ig secretada en los glóbulos rojos recubiertos con anti-Ig. El ensayo de placas múltiples se puede llevar a cabo por una modificación que utiliza placas de microtitulación. **b**) La fotografía de las placas las muestra como áreas circulares oscuras (algunas de los cuales están indicadas con flechas) bajo iluminación con fondo oscuro. Presentan tamaño variable que depende de la afinidad del anticuerpo y la velocidad de secreción por la célula formadora de anticuerpo. (Cortesía de C. Shapland, P. Hutchings y profesor D. Male.)

do con una solución del antígeno polisacárido. Después del lavado se agrega un anticuerpo contra el polisacárido marcado con fluoresceína para localizar las células que se habían unido de manera específica al antígeno.

El nombre de la prueba deriva del hecho que el antígeno queda intercalado (sándwich) entre el anticuerpo presente en el sustrato celular y el que se agregó como segunda capa (fig. 7-3c).

Técnicas de formación de placas

Las células que secretan anticuerpos pueden cuantificarse mediante su dilución en un ambiente en el cual el anticuerpo formado por cada célula individual produce un efecto que puede observarse con facilidad. En una técnica, desarrollada a partir del método original de Jerne y Nordin, las células provenientes de un animal inmunizado con eritrocitos de carnero se suspenden junto con un exceso de glóbulos rojos de carnero y complemento, dentro de una cámara poco profunda formada entre dos portaobjetos. Con la incubación, las células formadoras de anticuerpos liberan su inmunoglobulina, que recubre los eritrocitos circundantes. El complemento causará la lisis de las células recubiertas por lo que luego puede observarse una **placa** despejada de glóbulos rojos alrededor de cada célula formadora de anticuerpo (fig. 7-11). Las placas directas obtenidas de este modo revelan las células productoras de IgM, ya que este anticuerpo tiene una alta eficacia hemolítica. Para demostrar las células que sintetizan IgG es necesario incrementar la unión del complemento del complejo eritrocito-anticuerpo IgG mediante el agregado de suero de conejo anti-IgG; las "placas indirectas" así desarrolladas pueden utilizarse para cuantificar las células que elaboran anticuerpos de diferentes subclases de inmunoglobulina, siempre que se disponga del adecuado antisuero de conejo. El método puede expandirse recubriendo los glóbulos rojos con un antígeno como polisacárido de *Pneumococcus* o por el acoplamiento de los grupos hapteno a la superficie del eritrocito.

En la modificación **ELISPOT**, la suspensión de las células formadoras de anticuerpos se incuban en las microcubetas de las placas de microtitulación que contienen filtros recubiertos con antígeno. El anticuerpo secretado es capturado localmente y se visualiza después de la eliminación de las células, por el tratamiento con anti-Ig marcada con enzima y el desarrollo de la reacción de color con el sustrato. Los puntos macroscópicos pueden cuantificarse con facilidad (fig. 7-12).

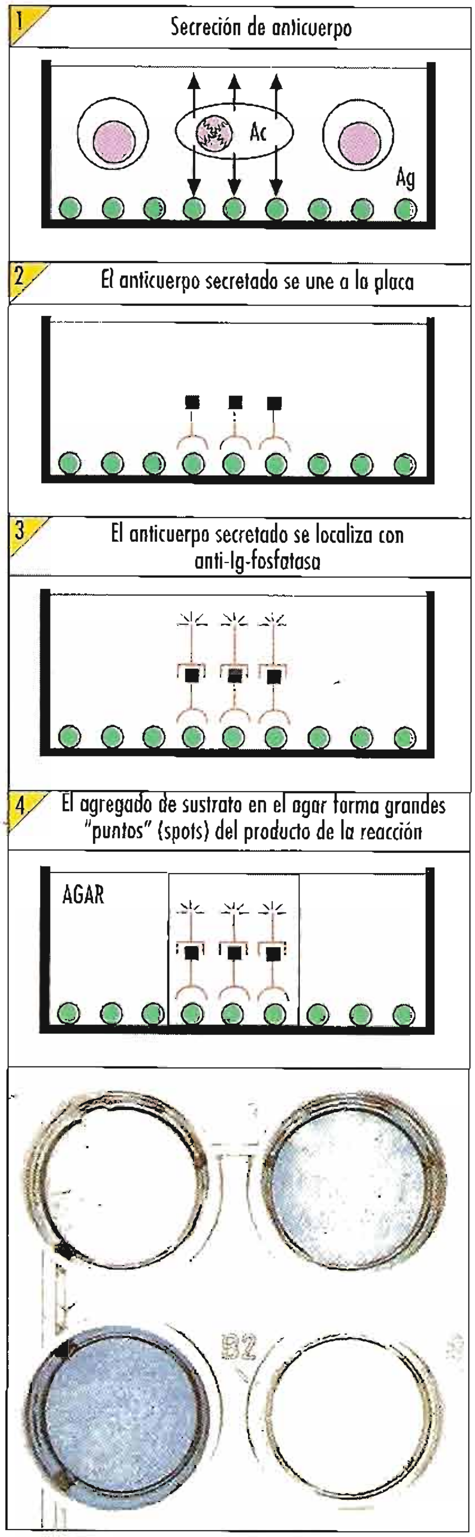

1
Secreción de anticuerpo
Ac
Ag
2
El anticuerpo secretado se une a la placa
3
El anticuerpo secretado se localiza con anti-Ig-fosfatasa
4
El agregado de sustrato en el agar forma grandes "puntos" (spots) del producto de la reacción
AGAR
B2

Fig. 7-12. **Sistema ELISPOT (de ELISA spot) para cuantificar las células formadoras de anticuerpos.** El cuadro muestra puntos formados por células de hibridoma que elabora autoanticuerpos contra tiroglobulina reveladas por la anti-Ig unida con fosfatasa alcalina (cortesía de P. Hutchings). Cantidades crecientes de células de hibridoma fueron agregadas a los dos orificios superiores y al inferior izquierdo, los que muestran aumentos correspondientes en la cantidad de "ELISPOT". El orificio inferior derecho es utilizado como control utilizando un hibridoma de especificidad irrelevante.

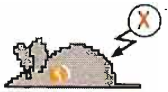
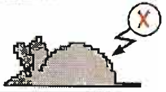
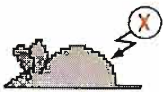
	Operación ►	Irradiación ►	Restitución ►	Inducción de la inmunidad mediada por células
1	Timectomía simulada		Médula ósea	++
2	Timectomía		Médula ósea	-
3	Timectomía		Médula ósea + linfocitos adultos	++

Fig. 7-13. **Maduración de células madre de médula ósea bajo la influencia del timo** para transformar linfocitos inmunocompetentes capaces de reacciones inmunes mediadas por células. La irradiación X (X) destruye la capacidad de linfocitos del huésped para montar una respuesta inmune celular, pero las células madre en la médula ósea inyectada pueden tornarse inmunocompetentes y restaurar la respuesta (1) a menos que se extirpe el timo (2), en cuyo caso sólo los linfocitos ya inmunocompetentes son eficaces (3). A propósito, las células madre de médula ósea también restauran los niveles de otros elementos formes de la sangre (glóbulos rojos, plaquetas, neutrófilos, monocitos) que de otra manera disminuyen de manera espectacular después de la irradiación con rayos X, y esta terapéutica es crucial en los casos donde la exposición accidental o terapéutica de rayos de X u otros agentes mitóticos daña de manera intensa las células hematopoyéticas.

Análisis de la actividad funcional por reconstitución celular

Quimeras por irradiación

Las poblaciones enteras de linfocitos y polimorfonucleares pueden ser inactivadas por dosis apropiadas de irradiación X. Los animales tratados de este modo pueden ser reconstituidos por la inoculación de células multipotenciales hematopoyéticas de médula ósea, que proporcionan las células precursoras de todos los elementos formes de la sangre (véase fig. 12-1). Estas quimeras del huésped más las células hematopoyéticas injertadas pueden manipularse de muchas maneras para analizar la función celular, como el papel del timo en la maduración de los linfocitos T a partir de las células multipotenciales de médula ósea (fig. 7-13).

Ratones con inmunodeficiencia combinada grave (SCID)

Los ratones con defectos en los genes que codifican la cadena γ del receptor IL-2, el mecanismo de

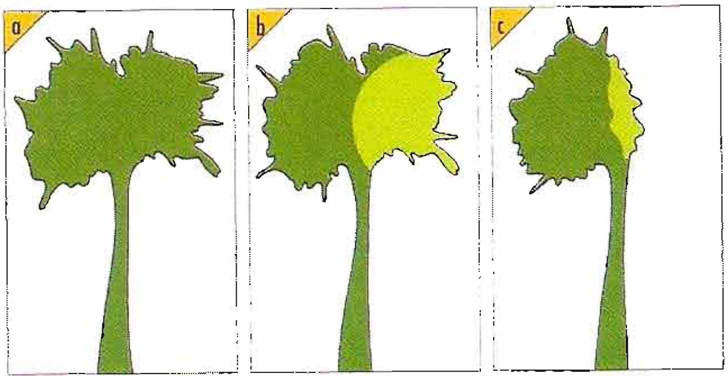


Fig. 7-14. Microcirugía de un cono de crecimiento neuronal repleto de anticuerpos anticalcineurina marcados con verde de malaquita. El cono de crecimiento muestra la retractación inducida por el láser de las extensiones de la membrana: (a) antes, (b) durante y (c) después de la fulguración del láser. (Reproducido de un comentario realizado por Muller B.K. & Bonhoeffer F (1995) *Current Biology* 11, 1255 en los experimentos de Jay D.G. y col. (1995) *Nature* 376, 686, con autorización.)

salvataje de las enzimas adenosina desaminasa o purina nucleósido fosforilasa o las enzimas RAG, desarrollan SCID debido a una deficiencia en la diferenciación de las células B y T. Estos animales especiales pueden reconstituirse con diversos tejidos linfoides humanos y, a continuación, analizar sus funciones y respuestas. La coimplantación de fragmentos continuos de hígado fetal humano (células multipotenciales hematopoyéticas) y el timo permite la linfopoyesis T, la producción de células B y el mantenimiento de unidades formadoras de colonias del linaje mieloide y eritroide durante 6-12 meses. Las células de sangre periférica del adulto inoculadas en la cavidad peritoneal de ratones con SCID tratados con hormona del crecimiento pueden sostener la producción de células B humanas y anticuerpos, y utilizarse para generar hibridomas humanos que elaboran anticuerpos monoclonales definidos. En estos animales también es posible manipular las respuestas antitumorales inmunoterapéuticas.

Interacciones celulares in vitro

Es obvio que los métodos mencionados antes para la depleción, el enriquecimiento y el aislamiento de poblaciones de células individuales le permite al investigador estudiar las interacciones celulares a través de recombinaciones juiciosas. Estas interacciones por lo común son más efectivas cuando las células operan dentro de alguna clase de red de la estroma, con una estructura que recuerda la de los tejidos donde su función se expresa de manera óptima. Por ejemplo, la colonización de rudimentos de timo fetal murino en cultivo con precursores de células T nos permite seguir el patrón de proliferación, maduración, reordenamiento de TCR y selección, positiva y negativa, vista por lo común in vivo (véase pág. 254).

Un sistema aun más refinado incluye el agregado de poblaciones linfoides seleccionadas a células de la estroma desagregadas, derivadas de los lóbulos tímicos fetales, deplecionadas de células linfoides endógenas con oxiguanosina. Las células pueden centrifugarse en un "pellet" y cocultivarse en gotas pendientes; cuando se transfieren a un cultivo de órgano normal después de unas horas, se reagregan de un modo bastante mágico conformando un lóbulo intacto y tienen lugar los diversos procesos de diferenciación y maduración.

Exploración de la función con anticuerpos

Los anticuerpos pueden utilizarse para confirmar la importancia del entrecruzamiento de los componentes de superficie celular para varias funciones. Un ejemplo excelente es la inducción de la liberación de histamina de las células cebadas por el fragmento divalente $F(ab')_2$ anti-FcεRI pero no por el fragmento univalente. De manera similar, el anti-FcγR divalente activa la fagocitosis en los macrófagos, mientras que un anticuerpo biespecífico contra CD3 y CD4 reúne las dos moléculas sobre la superficie de la célula T e induce la activación.

El daño intracelular definido desde un punto de vista espacial mediante la inactivación con láser, asistida por cromóforo, puede llevarse a cabo con el uso de anticuerpos. Por ejemplo, un cono de crecimiento neuronal en un embrión vivo puede permearse y cargarse con anticalcineurina marcada con verde de malaquita que absorbe la luz a 620 nm, donde la mayoría de los constituyentes celulares no lo hacen. Un láser que emite luz de esta longitud de onda irradiará el conjugado cromóforo-anticuerpo, lo que genera un pulso de radicales libres altamente reactivos que causan la inactivación en una pequeña región con un diámetro aproximado de 15 Å. La figura 7-14 muestra que el centelleo del láser produce la retracción de las extensiones de la membrana en forma de filopodios y lamelipodios. Esto a su vez influye sobre la dirección del movimiento de crecimiento posterior del cono, lo que demuestra la participación de la calcineurina, una fosfatasa dependiente de calmodulina, en el gobierno del cono de crecimiento. Si el investigador actúa en diferentes fases embrionarias, puede destruir las funciones de un modo transitorio así como restringido en el espacio. Esta técnica debiera ser una herramienta microquirúrgica celular discriminativa de considerable utilidad y aplicabilidad.

INGENIERÍA GENÉTICA DE CÉLULAS

Inserción y modificación de genes en las células de mamífero

Dado que la transferencia de genes al interior de las células de mamíferos es ineficaz, se acostumbra utilizar líneas de células inmortales para estas **transfecciones** e incluir un marcador seleccionable, como la resistencia a la neomicina. Los genes pueden introducirse en las células como precipitados de fosfato de calcio o electroporación, en el cual un pulso eléctrico breve crea de manera transitoria orificios en la membrana celular. Otro enfoque consiste en incorporar el gen en los liposomas, el cual se fusiona con la membrana celular. También es eficaz la microinyección directa de DNA. La integración del gen en el genoma de un virus, como el virus vacuna (vaccinia), es una forma sencilla de ingresar en la célula, aunque se obtienen transfecciones más estables en el largo plazo con vectores retrovirales modificados. Una de las últimas novedades es la transfección por medio de la biolística, palabra derivada de la balística biológica. El DNA que recubre micropartículas de oro se dispara literalmente de un arma de helio a alta presión y penetra las células; incluso las células vegetales, con sus cubiertas de celulosa, no escapan a esta tecnología. La piel y los tejidos expuestos por cirugía también pueden ser penetrados con facilidad.

Estudiar el efecto de *agregar* un gen, entonces, no ofrece demasiados problemas técnicos. ¿Cómo se evalúa el impacto de *eliminar* un gen? Una estrategia versátil para suprimir la función del gen endógeno consiste en ocuparse del mRNA del gen como un elemento distinto del gen propiamente dicho. Las secuencias de nucleótidos complementarias al mRNA del gen blanco son introducidas en la célula, por lo general en una forma que les permite replicarse. Las moléculas **antisentido** así producidas aparean sus bases con el mRNA blanco y bloquean la traducción en proteína.

Introducción de nuevos genes en animales

Creación de "ratones diseñadores" que poseen genes nuevos

Los ratones hembra son inducidos a una superovulación y luego se los aparea. En los huevos fertilizados se microinyecta el gen y se realiza la implantación quirúrgica en las hembras. Entre el 5% y el 40% de los oocitos implantados se desarrollan hasta el término y, de éstos, 10% al 25% posee copias del gen inyectado integradas de manera estable en sus cromosomas, las que pueden detectarse por PCR. Estos animales transgénicos "fundadores" son apareados con ratones no transgénicos y por último se establecen líneas transgénicas puras (fig. 7-15).

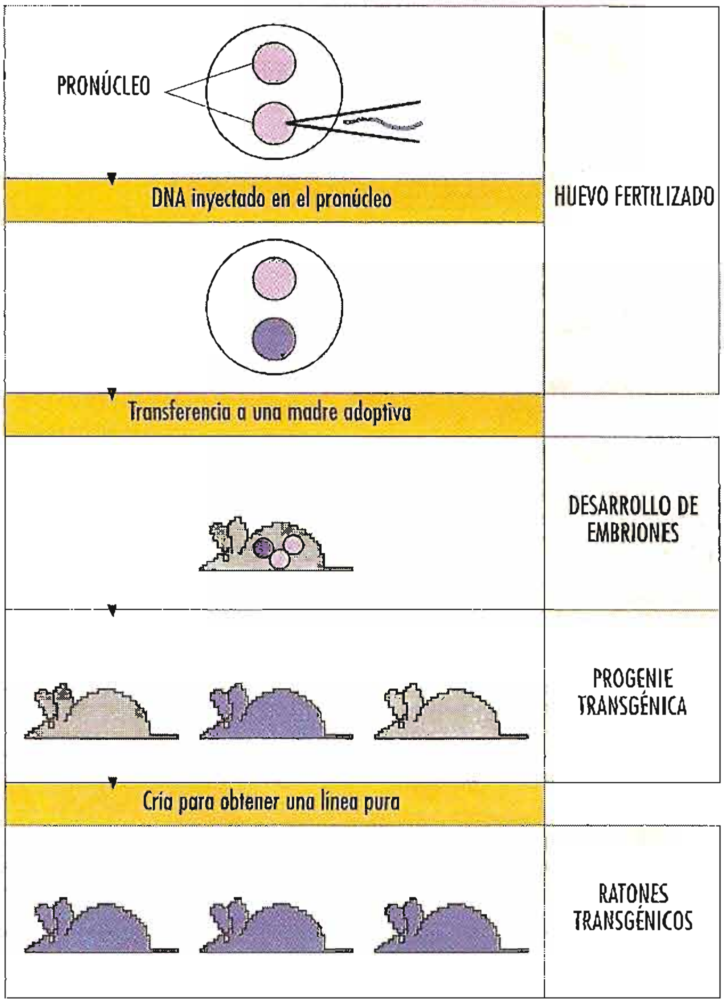

PRONÚCLEO
DNA inyectado en el pronúcleo
HUEVO FERTILIZADO
Transferencia a una madre adoptiva
DESARROLLO DE EMBRIONES
PROGENIE TRANSGÉNICA
Cría para obtener una línea pura
RATONES TRANSGÉNICOS

Fig. 7-15. Producción de una cepa pura de ratones transgénicos por microinyección del huevo fertilizado, implantación en una madre adoptiva y endocría posterior.

La expresión del transgén puede estar dirigida a tejidos particulares si se incluye el promotor pertinente en la estructura, por ejemplo el promotor tiroglobulina confinará la expresión al tiroides. Un enfoque diferente es activar y desactivar el gen a voluntad, mediante la incorporación de un promotor inducible. Así, el promotor metalotionina sólo posibilitará la expresión de su gen unido si se agrega cinc al agua de bebida de los ratones. Es necesario confirmar que sólo se obtiene la expresión deseada, dado que, en algunas situaciones, los promotores pueden comportarse

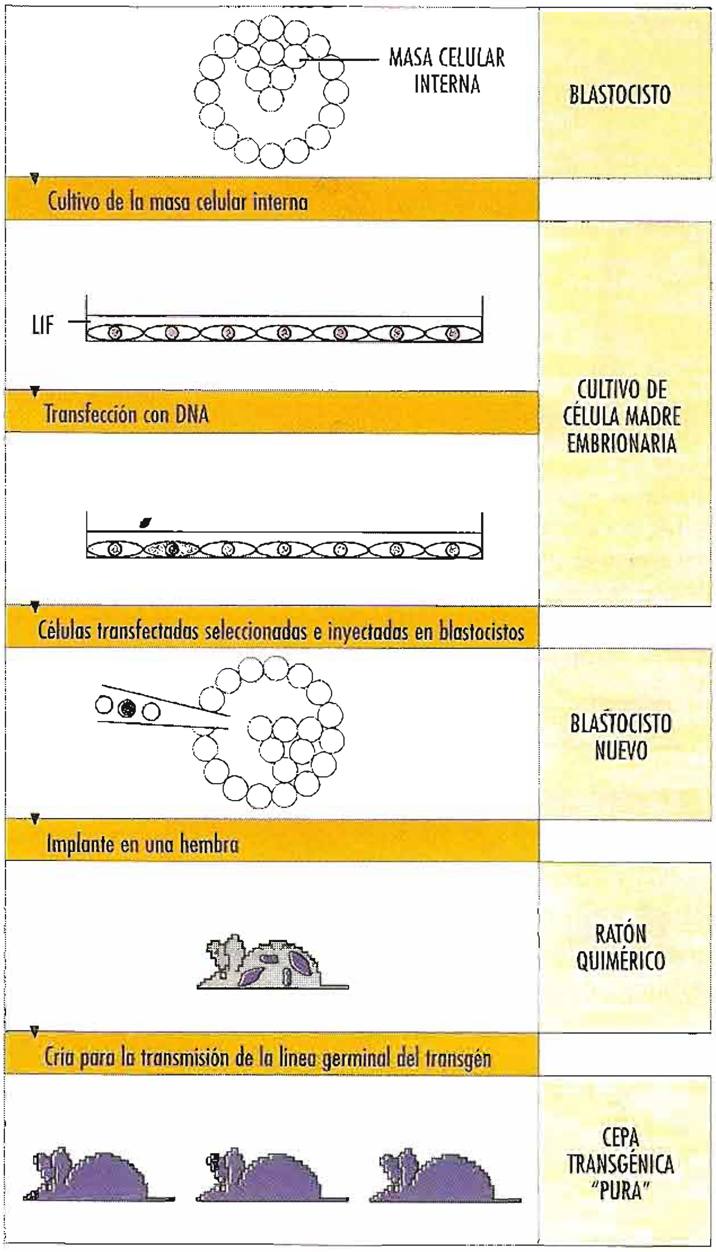

MASA CELULAR INTERNA
BLASTOCISTO
Cultivo de la masa celular interna
LIF
CULTIVO DE CÉLULA MADRE EMBRIONARIA
Transfección con DNA
Células transfectadas seleccionadas e inyectadas en blastocistos
BLASTOCISTO NUEVO
Implante en una hembra
RATÓN QUIMÉRICO
Cría para la transmisión de la línea germinal del transgén
CEPA TRANSGÉNICA "PURA"

Fig. 7-16. Introducción de un transgén a través de la transfección de células madre embrionarias. Las células transfectadas pueden seleccionarse, por ejemplo para recombinantes homólogos "por noqueo" ("knock out"), antes de la reimplantación. LIF, factor inhibitorio de la leucemia.

de manera errónea lo que conduce a una expresión "inoportuna" del gen asociado.

Transgenes introducidos en células multipotenciales embrionarias

Las **células multipotenciales (madre) embrionarias** (en inglés, embryonic stem - ES) pueden obtenerse mediante el cultivo de la masa celular interna de los blastocistos del ratón. Después de la transfección del gen apropiado, pueden seleccionarse las células transfectadas y reimplantarlas después de la inyección en un nuevo blastocisto. Los ratones resultantes son quiméricos, o sea que algunas células portan el transgén y otras no. Lo mismo es cierto para las células germinales, y pueden producirse cepas puras engendradas por transmisión de la línea germinal del transgén (fig. 7-16).

La ventaja sobre la microinyección es que las células se pueden seleccionar después de la transfección y esto adquiere una importancia especial si se requiere una **recombinación homóloga** con el objeto de generar "**ratones noqueados**" (knockout mice), que carecen del gen que ha sido blanco de este proceso. En este caso, una secuencia de DNA que romperá el marco de lectura del gen endógeno se inserta en las células ES. Dado que la recombinación homóloga es un hecho raro comparado con la integración al azar, los marcadores seleccionables son incorporados en la construcción (estructura) con el objeto de transferir sólo aquellas células ES en las que el gen endógeno ha sido delecionado (fig. 7-17). Ésta es una tecnología verdaderamente poderosa y la comunidad biológica en su totalidad se ha contagiado con la fiebre del boxeo, noqueando a los genes a la derecha, a la izquierda y al centro. En el cuadro 7-2 se mencionan sólo unos pocos ejemplos de interés para los inmunólogos de ratones generados por noqueo.

No es un hallazgo particularmente raro observar que el noqueo de un gen de modo inesperado conduce a defectos del desarrollo. Aunque esto en sí mismo puede proporcionar información importante que implica al gen en la biología del desarrollo del animal, puede frustrar el objetivo original del experimento. De hecho, varios ratones generados por noqueo no son viables debido a letalidad embrionaria. No teman, una vez más la ingeniosidad triunfa, en este caso por el servicio activo de los sistemas de recombinasas virales o de levaduras. En lugar de usar un gen no funcional para crear el ratón por noqueo, la construcción blanco contiene la forma normal del gen pero flanqueada con las secuencias de reconocimiento (sitios *loxP*) para una enzima recombinasa denominada Cre. Estos ratones son apareados con ratones transgénicos que contienen el transgén *Cre* derivado del bacteriófago P1 unido a un promotor inducible o específico del tejido. El gen endógeno de interés será delecionado sólo en el momento y en el lugar donde se expresa Cre (fig. 7-18). El sistema Cre/*loxP* también puede estar organizado de modo tal que transforma la expresión de un gen incorporando una secuencia de detención flanqueada por los sitios *loxP*.

Los ratones en los que un gen endógeno es reemplazado adrede por un gen funcional por noqueo por inserción ("knock in mice") versión modificada del gen original u otro completamente diferente son

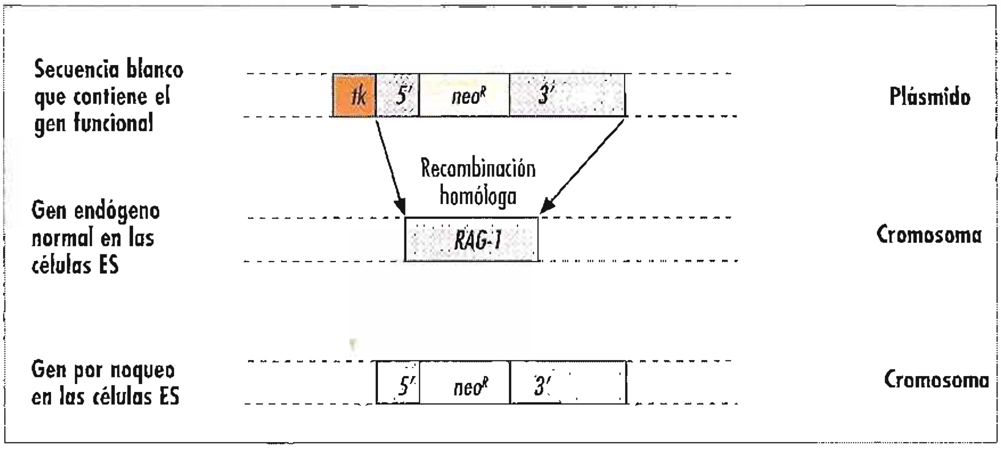

Secuencia blanco que contiene el gen funcional
tk
5′
neo^R
3′
Plásmido
Recombinación homóloga
Gen endógeno normal en las células ES
RAG-1
Cromosoma
Gen por noqueo en las células ES
5′
neo^R
3′
Cromosoma

Fig. 7-17. Desorganización génica por recombinación homóloga con DNA de plásmidos que contiene una copia del gen de interés (en este ejemplo *RAG-1*) en el que se insertó una secuencia que especifica resistencia a la neomicina (*neo*^{R}) de modo similar al marco de lectura destruido *RAG-1 entre los extremos* 5′ y 3′ del gen. Las células madre embrionarias (ES) en las cuales se incorporó la secuencia blanco en el DNA cromosómico por recombinación homóloga serán resistentes al análogo G418 de la neomicina. Las células madre en las que se produjo la recombinación no homóloga en el DNA cromosómico incorporarían además el gen *timidina cinasa* (*tk*), que podrá utilizarse para destruir estas células mediante su cultivo en presencia de ganciclovir, lo que deja sólo células ES en las que se logró la recombinación homóloga. Luego éstas se utilizan para crear un ratón por noqueo.

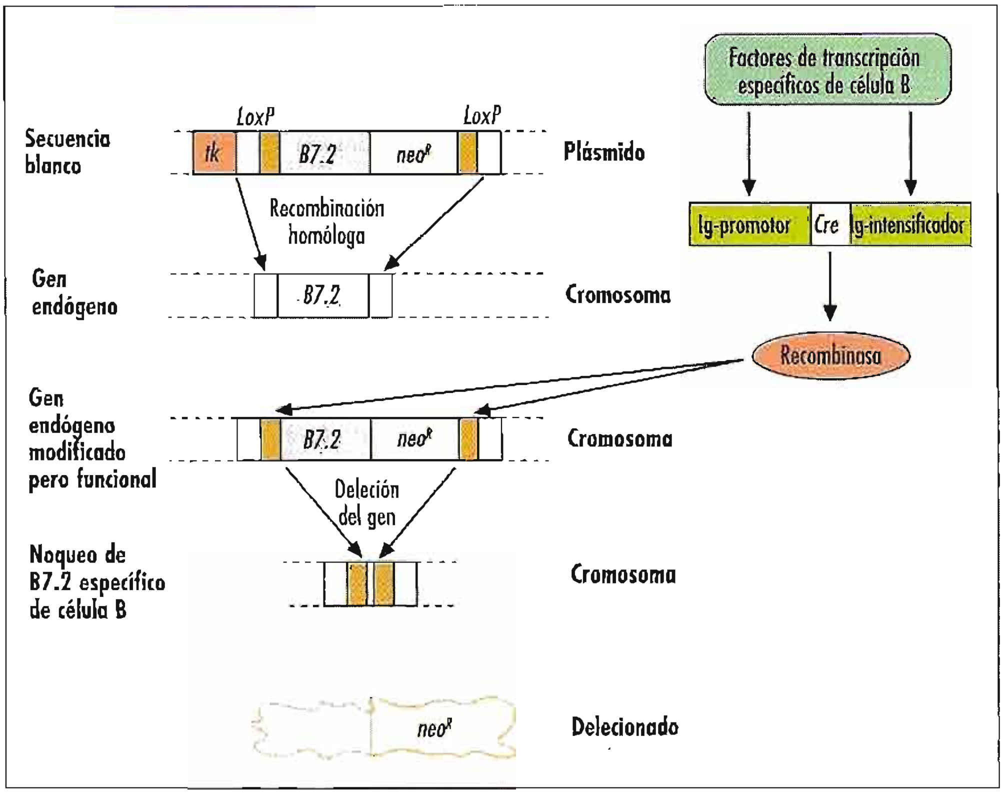

Factores de transcripción específicos de célula B
Secuencia blanco
LoxP
LoxP
tk
B7.2
neo^R
Plásmido
Ig-promotor
Cre
Ig-intensificador
Recombinación homóloga
Gen endógeno
B7.2
Cromosoma
Recombinasa
Gen endógeno modificado pero funcional
B7.2
neo^R
Cromosoma
Deleción del gen
Noqueo de B7.2 específico de célula B
Cromosoma
neo^R
Delecionado

Fig. 7-18. Noqueo condicional. El gen endógeno que está en estudio (aquí *B7-2*) es reemplazado de modo homólogo en las células ES por un gen idéntico, como en la figura 7-17, pero aquí flanqueado por las secuencias *loxP* (recuadros de color castaño) y con el gen *neo*^{R} incorporado de un modo puramente no desorganizativo para los propósitos de selección. Los recombinantes no homólogos contendrán el gen *tk* y son eliminados mediante el empleo de ganciclovir. Luego se generan animales transgénicos a partir de células ES resistentes a G418. Si los transgénicos *B7.2 loxP* homocigotos son cruzados con ratones que contienen un transgén para la recombinasa Cre bajo el control de elementos reguladores específicos, sólo aquellas células en las que el promotor es activo producirán la enzima Cre, necesaria para delecionar la secuencia flanqueada por *loxP*. El ejemplo mencionado representaría un experimento destinado a investigar el efecto del noqueo específico B7.2 en las células B mientras se mantiene su expresión, por ejemplo, en las células dendríticas.

Cuadro 7-2. *Algunos genes "noqueados" y sus efectos*

Blanco del noqueo	Fenotipo del ratón por noqueo
Cadena α de CD8	Ausencia de células T citotóxicas
p59^{fynT}	Señalización defectiva en los timocitos pero no en las células T periféricas
HOX 11	Ausencia en el bazo
IgE	¡Sin defectos observados!
Cadena α- de FcεR1	Resistente a la anafilaxia cutánea y sistémica
Exón de la cadena μ de la IgM de membrana	Ausencia de células B
IL-6	Sin pérdida ósea cuando se realiza ooforectomía (¿implicación en la osteoporosis?)
IL-18	Susceptible a *Leishmania major*, cambio de la respuesta Th1 a Th2 (disminución del IFNγ y aumento de la producción de IL-4)
Aβ de la molécula clase II del CMH	Disminución de las células T CD4; enfermedad inflamatoria intestinal
Perforina	Daño de CTL y de la función de células NK
TAP1	Falta de células CD8
TNFR-1	Resistente al shock endotóxico, sensible a *Listeria*

Modificado de Brandon (1995) *Current Biology* 5, 625.

denominados "ratones noqueados". En consecuencia, en el ejemplo mencionado antes el noqueo por inserción en el gen flanqueado por *loxP* conduce por último a un gen puesto fuera de combate en un tipo celular selecionado. Otro ejemplo de un noqueo por inserción en el gen se mencionó en la pág. 149 con el reemplazo del *RAG-2* endógeno con un gen por fusión *RAG-2-GFP*.

Terapia génica en seres humanos. Parece que estamos alcanzando la ciencia ficción y estamos en las fases tempranas de poder corregir el infortunio genético mediante la introducción de genes "buenos". La provisión génica eficaz aún posee problemas importantes si bien ha habido algunos éxitos recientes. Una forma de inmunodeficiencia combinada grave (SCID) se debe a una mutación en el gen γc, que codifica una subunidad de los receptores citocina para la IL-2; IL-4, IL-7, IL-9 e IL-15. La corrección de este defecto en los niños se ha logrado por la transferencia in vitro del gen normal en las células multipotenciales de la médula ósea CD34$^+$ que utiliza un vector derivado de un retrovirus Moloney, una prueba convincente del principio para la terapia génica humana. También quedó demostrado que los vectores adenovirus útiles en la terapia génica en el pasado, cada vez más están siendo reemplazados por el virus asociado con los adenovirus (AAV), que puede ser más seguro. Se logró cierto éxito con el empleo de la inyección intramuscular de vectores basados en AAV para transferir el factor IX de la coagulación sanguínea humana en los pacientes con hemofilia B.

RESUMEN

Aislamiento de subpoblaciones de leucocitos

- Las células pueden separarse sobre la base de características físicas como tamaño, densidad de flotación y adhesividad.
- Las células fagocíticas pueden separarse con un imán después de la captación de partículas de hierro y las células que se dividen en respuesta a un estímulo específico, por ejemplo antígeno, pueden eliminarse por la luz ultravioleta después de la incorporación de 5-bromodesoxiuridina.
- Las células recubiertas con anticuerpo pueden eliminarse por citotoxicidad mediada por anticuerpos o conjugados anti-Ig-ricino; pueden aislarse por el enfrentamiento con anti-Ig en fase sólida o por formación de cúmulos con perlas magnéticas que poseen anti-Ig en su superficie.
- Cantidades más pequeñas de células pueden fraccionarse al cubrirlas con un anticuerpo monoclonal fluorescente y separarlas de las células no fluorescentes en el FACS.
- Las células T específicas para un antígeno pueden ser enriquecidas como líneas o clones mediante la estimulación con el antígeno; la fusión apropiada a líneas de células T tumorales produce hibridomas de células T inmortales específicas para el antígeno.

Localización inmunohistoquímica de antígenos en células y tejidos

- Los antígenos pueden localizarse si son teñidos con anticuerpos fluorescentes y observados con un microscopio de fluorescencia.
- La microscopia confocal examina un plano muy delgado con gran aumento y proporciona datos cuantitativos en imágenes extremadamente nítidas de las estructuras que contienen el antígeno, las que también pueden examinarse en tres dimensiones.
- Los anticuerpos se pueden marcar directamente o visualizarse mediante un segundo anticuerpo, una anti-Ig marcada.
- En un citómetro de flujo se investigan células únicas en gotas individuales, mediante el empleo de uno o más haces de láser, y pueden registrarse los datos cuantitativos que utilizan diferentes marcadores fluorescentes, lo que da un análisis fenotípico complejo de cada célula en una mezcla heterogénea. Además, la dispersión de la luz del láser define el tamaño celular y la dispersión a 90º, la granularidad celular.
- También pueden utilizarse anticuerpos fluorescentes o sus fragmentos para teñir antígenos intracelulares en las células permeabilizadas. También se dispone de sondas para pH, Ca^{2+}, Mg^{2+}, Na^{+}, tioles y contenido de DNA. En la actualidad también pueden estudiarse elementos reguladores génicos unidos a un gen informador como *GFP* en el nivel de célula única por citometría de flujo.
- Los anticuerpos pueden marcarse por enzima para la definición histoquímica de antígenos con microscopio óptico y acoplados con partículas de oro coloidal de diferentes tamaños para la visualización ultraestructural en el microscopio electrónico.

Expresión génica

- La expresión del mRNA puede localizarse por hibridación in situ mediante el empleo de una sonda de oligonucleótido complementaria.
- Un cuadro completo de la expresión génica celular es ahora asequible por la hibridación en dispositivos microclasificadores.

Evaluación de la actividad funcional

- Pueden estudiarse, casi de manera sistemática, la quimiotaxis de neutrófilos, la fagocitosis, la actividad oxidasa del NADH (nicotinamida adenina dinucleótido reducido) y el poder microbicida.
- Las respuestas de linfocitos contra antígenos son monitoreadas por la proliferación, por la liberación de citocina o por ambas. Las células individuales que secretan citocinas pueden identificarse por la técnica ELISPOT, en la cual el producto secretado es capturado por un anticuerpo en fase sólida y luego teñido con un segundo anticuerpo marcado.
- La destrucción extracelular por las células T citotóxicas y células NK puede determinarse por la liberación de ^{51}Cr radiactivo a partir de las células blanco premarcadas.
- La frecuencia del precursor de células T efectoras puede medirse por la tinción de las células con tetrámeros péptido-CMH o por análisis de dilución limitante.
- Las células formadoras de anticuerpos pueden cuantificarse ya sea por una prueba sándwich de inmunofluorescencia o por técnicas de formación de placas, en las que el anticuerpo secretado por las células causa la lisis mediada por complemento de los glóbulos rojos adyacentes o es capturado por el antígeno en fase sólida en un ensaye ELISPOT.
- La actividad funcional puede evaluarse mediante experimentos de reconstrucción celular en los que conjuntos de leucocitos y tejido linfoide seleccionado pueden trasplantarse en huéspedes que no responden, como receptores irradiados o ratones con SCID. Poblaciones celulares definidas también pueden separarse y recombinarse de manera selectiva in vitro.
- Los anticuerpos pueden utilizarse para la exploración de la función celular, por entrecruzamiento de los componentes de la superficie celular o por destrucción selectiva de sitios intracelulares particulares, por irradiación con láser de anticuerpos específicos conjugados con cromóforos que se localizan en el área blanca por la penetración de células permeabilizadas.

Ingeniería genética de las células

- Los genes pueden insertarse en células de mamífero por transfección, utilizando precipitados de fosfato de calcio, electroporación, liposomas y microinyección.
- Los genes también pueden ingresar en una célula después de la incorporación en virus vacuna o retrovirus.

- La función génica endógena puede ser inhibida por RNA antisentido o por recombinación homóloga con un gen desintegrado.
- Los ratones transgénicos que portan un gen completamente nuevo introducido en un huevo fertilizado por microinyección de DNA pueden ser establecidos como líneas endocriadas.
- Los genes pueden ser introducidos en células multipotenciales embrionarias; estas células madre modificadas son inyectadas de nuevo en un blastocisto y pueden desarrollar ratones fundadores a partir de los cuales pueden criarse animales transgénicos puros. Una aplicación muy importante de esta técnica comprende la ruptura de un gen blanco en la célula multipotencial embrionaria por recombincación homóloga, lo que produce "ratones noqueados" ("knock out") que carecen de un gen específico. Los noqueos condicionales emplean sistemas de recombinasas como Cre/*loxP*, con el objeto de controlar la deleción ya sea temporaria o de manera específica del tejido.
- Los "ratones por noqueo por inserción" ("knock in") que poseen el gen específico tienen un gen endógeno reemplazado ya sea por una variante de ese gen o por otro completamente diferente.
- La terapia génica humana promete un futuro excitante. La provisión de genes por vectores, basados en retrovirus o en virus relacionados a los adenoviurus, se encuentran bajo intensa investigación.

Véanse preguntas de opciones múltiples en el sitio web correspondiente (www.roitt.com).

LECTURAS ADICIONALES

Ausubel F.M., Brent R., Kingston R.E., Moore D.D., Seidman J.G., Smith J.A. & Struhl K. (eds) (1987; continually updated) *Current Protocols in Molecular Biology*, 1-2. Greene Publishing Associates & Wiley-Interscience, New York.

Brandtzaeg P. (1998) The increasing power of immunohistochemistry and immunocytochemistry. *Journal of Immunological Methods* **216**, 49.

Carter L.L. & Swain S.L. (1997) Single cytokine analysis of cytokine production. *Current Opinion in Immunology* **9**, 177.

Cavazzana Calvo S. *et al.* (2000) Gene therapy of human severe combined immunodeficiency (SCID)-XI disease. *Science* **288**, 669.

Coligan J.E., Kruisbeek A.M., Margulies D.H., Shevach E.M. & Strober W. (eds) (1991; continually updated) *Current Protocols in Immunology*, 1-2. Greene Publishing Associates & Wiley-Interscience, New York.

Cotter T.G. & Martin S.J. (eds) (1996) *Techniques in Apoptosis: A User's Guide*. Portland Press, London.

Lefkovits I. & Waldmann H. (1999) *Limiting Dilution Analysis of Cells of the Immune System*, 2nd edn. Oxford University Press, Oxford.

Monroe R.J. *et al.* (1999) RAG2:GFP knockin mice reveal novel aspects of RAG2 expression in primary and peripheral lymphoid tissues. *Immunity* **11**, 201.

Ogg G.S. & McMichael A.J. (1998) HLA-peptide tetrameric complexes. *Current Opinion in Immunology* **10**, 393.

Robinson J.P. & Babcock G.F. (eds) (1998) *Phagocyte Function: A Guide for Research and Clinical Evaluation*. Wiley-Liss, New York.

Staudt L.M. & Brown P.O. (2000) Genomic views of the immune system. *Annual Reviews of Immunology* **18**, 829.

Storch W.B. (2000) *Immunofluorescence in Clinical Immunology: A Primer and Atlas*. Birkhäuser Verlag AG, Basel.

Watson J.D., Gilman M., Witkowski J. & Zoller M. (1992) *Recombinant DNA*, 2nd edn. Scientific American Books, New York.

Weir D.M. *et al.* (eds) (1996) *Handbook of Experimental Immunology: Volume 4*, 5th edn. Blackwell Scientific Publications, Oxford.

CAPÍTULO 8

La anatomía de la respuesta inmune

www.el12cirujano.blogspot.com/

Introducción, 163
La necesidad de un tejido linfoide organizado, 163
Tráfico de linfocitos entre el tejido linfoide, 165
  Los linfocitos se dirigen a sus tejidos específicos, 165
  La transmigración ocurre en tres etapas, 167
  Una mirada más cercana a los receptores interactuantes y sus ligandos, 168
Ganglios linfáticos encapsulados, 169
  Áreas de las células B, 169
  Áreas de las células T, 171
Bazo, 171
Tejido linfoide asociado a mucosas (MALT), 171
La médula ósea puede ser un sitio importante de síntesis de anticuerpos, 175
El uso de sitios privilegiados, 175
La manipulación del antígeno, 176
  Los macrófagos son células presentadoras de antígenos generales, 176
  Las células dendríticas interdigitantes presentan antígenos a los linfocitos T, 176
  Las células dendríticas foliculares estimulan las células B en los centros germinativos, 179
  Las células M proporcionan la puerta al sistema linfoide de las mucosas, 180
Resumen, 180
Lecturas adicionales, 181

INTRODUCCIÓN

Para analizar los acontecimientos que tienen lugar en el funcionamiento del sistema inmune como un todo, es obligatorio establecer una nomenclatura que identifique los marcadores de superficie sobre las células involucradas, dado que son utilizados para la comunicación y por lo común son moléculas funcionales, que reflejan el estado de diferenciación celular. El sistema de nomenclatura se establece de este modo. Los inmunólogos de sitios del mundo muy alejados que han producido anticuerpos monoclonales –dirigidos contra moléculas superficiales de las células B y T, macrófagos, neutrófilos, células natural killer (NK), etc.,– se reúnen a menudo en talleres internacionales para comparar las especificidades de sus reactivos, con un espíritu de cooperación que debiera ser una lección para la mayoría de los políticos. Cuando se descubre que un conjunto de anticuerpos monoclonales reacciona con el mismo polipéptido, sin duda representa una serie de reactivos que definen un marcador dado, por lo que se los rotula con un número de CD (**grupo de diferenciación**). En la actualidad se han asignado casi 250 números de CD, algunos de ellos con subdivisiones, pero los del cuadro 8-1 son los más importantes para nuestros análisis. En el apéndice 1 damos una lista completa de los marcadores CD. Es importante apreciar que el nivel de expresión de las moléculas de la superficie celular a menudo cambia a medida que las células se diferencian o son activadas y que existen "subpoblaciones" celulares que expresan de modo diferente moléculas particulares. Cuando la "presencia" o "ausencia" de un antígeno CD dado se expresa en un bajo nivel puede dar lugar a apreciaciones subjetivas, por lo que hay que tomar conciencia de que el bajo nivel de expresión no implica ne-

LA NECESIDAD DE UN TEJIDO LINFOIDE ORGANIZADO

Una respuesta inmune eficaz es el resultado de una serie intrincada de acontecimientos celulares. El antígeno debe unirse a las células presentadoras de antígeno y, si fuera necesario, ser procesado por ellas; éstas deben hacer contacto con células T y B, y activarlas; las células T helper deben asistir a las células B y a los precursores de las células T citotóxicas; además se requieren mecanismos que amplíen la cantidad de células efectoras potenciales por proliferación y luego lleven a cabo la diferenciación, para generar los mediadores de la inmunidad humoral y celular.

Cuadro 8-1. *Algunos de los printipales marcadores de cúmulos de diferenciación (CD) sobre células humanas*

CD	Expresión	Funciones
CD1	IDC, subpoblación B	Presenta glucolípidos y otros antígenos no peptídicos a las células T
CD2	T, NK	Receptor para coestimulador de CD58 (LFA-3). Se une a eritrocitos de carnero
CD3	T	Elementos transductores de receptor de células T
CD4	T helper, Mo, Mϕ	CMH clase II. Receptor de HIV
CD5	T, subpoblación B	Involucrado en la señalización de receptores antigénicos
CD8	T citotóxicos	Receptor para CMH clase I
CD14	G, Mo, Mϕ	Receptor de complejo LPS/LBP
CD16	G, NK, B, Mϕ, IDC	FcγRIII (receptor de IgG de afinidad intermedia)
CD19	B, FDC	Parte del complejo del receptor para antígeno de las células B
CD20	B	Desconocidas, pero puede proporcionar señales intracelulares
CD21	B, FDC	CR2. Receptor para C3d y virus de Epstein-Barr. Parte del complejo de receptor para antígeno de células B
CD23	B, Mo, FDC	FcεRII (receptor de IgE de baja afinidad)
CD25	*T, *B, *Mo, * Mϕ	Cadena α del receptor de IL-2
CD28	T, *B	Receptor para coestimuladores CD80/CD86 (B7.1 y B7.2)
CD32	Mo, Mϕs, IDC, FDC, G, NK, B	FcγRII (receptor de IgG de baja afinidad)
CD34	Progenitoras	Molécula de adhesión. Marcador de células madre
CD40	B, Mϕ, IDC, FDC	Receptor para coestimulador CD40L
CD45RA	Células T en reposo/vírgenes, B, G, Mo, NK	Fosfatasa, activación celular
CD45RO	Células T activadas/ memoria, Mo, DC	Fosfatasa, activación celular
CD64	Mo, Mϕ, DC	FcγRI (receptor de IgG de alta afinidad)
CD79a/CD79b	B	Elementos transductores de receptor de células B
CD80	*B, *T, Mϕ, DC	Receptor B7.1 para coestimulador CD28 y para señal inhibidora CTLA4
CD86	B, IDC, Mo	Receptor B7.2 para coestimulador CD28 y para señal inhibidora CTLA4
CD95	Amplia	Receptor Fas para FasL. Transmite señales apoptóticas

*, activado; B, linfocitos B; FDC, células dendríticas foliculares; G, granulocitos; IDC, células dendríticas interdigitantes; Mϕ, macrófagos; Mo, monocitos; NK, células natural killer; T, linfocitos T.

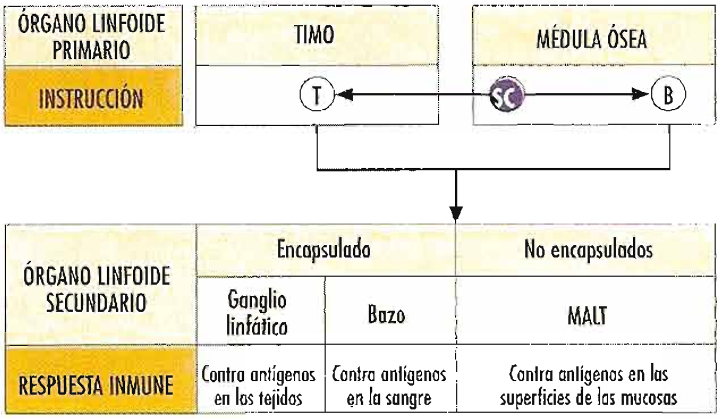

ÓRGANO LINFOIDE PRIMARIO
INSTRUCCIÓN
TIMO
MÉDULA ÓSEA
T
SC
B
ÓRGANO LINFOIDE SECUNDARIO
Encapsulado
No encapsulados
Ganglio linfático
Bazo
MALT
RESPUESTA INMUNE
Contra antígenos en los tejidos
Contra antígenos en la sangre
Contra antígenos en las superficies de las mucosas

Fig. 8-1. Organización funcional del tejido linfoide. Las células madre (stem cells - SC) que se originan en la médula ósea se diferencian en células T y B inmunocompetentes, en los órganos linfoides primarios, y luego colonizan los tejidos linfoides secundarios, donde se organizan las respuestas inmunes. El tejido linfoide asociado a mucosas (MALT) produce anticuerpos para las secreciones de las mucosas.

Además se deben formar células de memoria para las respuestas secundarias y la totalidad de la respuesta debe estar controlada, de modo que sea suficiente, pero no excesiva, y apropiada al tipo de infección de que se trate. Trabajando mucho podemos aislar las células que componen el sistema inmune y persuadirlas para que lleven a cabo algunas respuestas ante el antígeno en el tubo de ensayo; pero, en comparación con la eficacia del desarrollo global de la inmunidad en el organismo, nuestros esfuerzos dejan aún mucho que desear. In vivo la integración de las interacciones celulares complejas que forman la base de la respuesta inmune tiene lugar dentro de la arquitectura organizada del tejido linfoide periférico o secundario, que incluye los ganglios linfáticos, el bazo y el tejido no encapsulado que reviste los tractos respiratorio, gastrointestinal y genitourinario.

Estos tejidos son poblados por células de origen reticular, y por macrófagos y linfocitos derivados de las células madre de la médula ósea. Las células T se diferencian primero en células inmunocompetentes por un período de entrenamiento de alta presión en el timo; las células B son instruidas en la propia médula ósea (fig. 8-1). En esencia, los ganglios linfáticos filtran el material extraño que drena de los tejidos del cuerpo y, si fuera necesario, responden contra él, el bazo controla la sangre y el tejido linfoide no encapsulado está integrado estratégicamente en las superficies mucosas del cuerpo, como un sistema de defensa de avanzada basado sobre la secreción de IgA.

En la figura 8-2 se muestra la disposición anatómica de estos tejidos linfoides. Los linfáticos y los ganglios linfáticos asociados forman una red impre-

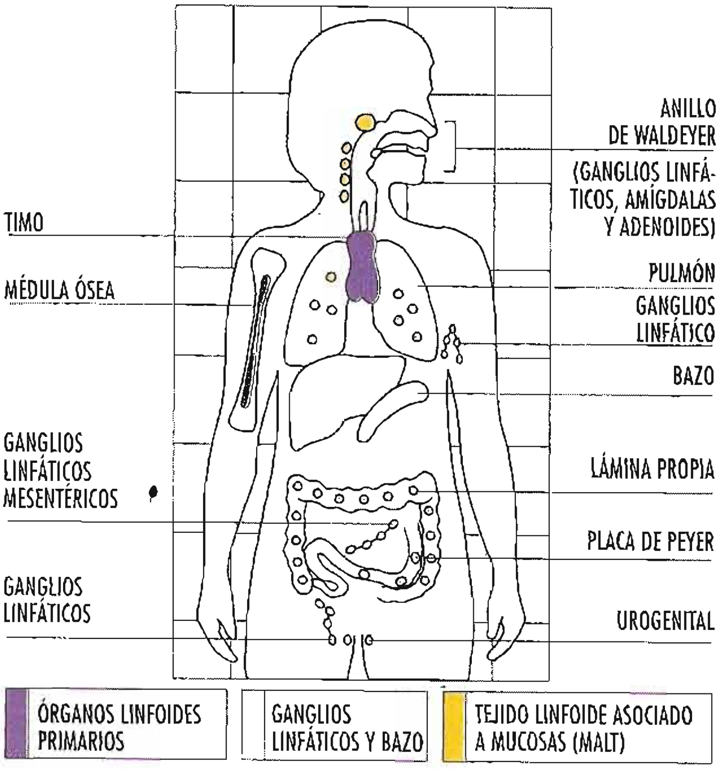

ANILLO DE WALDEYER
(GANGLIOS LINFÁTICOS, AMÍGDALAS Y ADENOIDES)
TIMO
MÉDULA ÓSEA
PULMÓN
GANGLIOS LINFÁTICO
BAZO
GANGLIOS LINFÁTICOS MESENTÉRICOS
LÁMINA PROPIA
PLACA DE PEYER
GANGLIOS LINFÁTICOS
UROGENITAL
ÓRGANOS LINFOIDES PRIMARIOS
GANGLIOS LINFÁTICOS Y BAZO
TEJIDO LINFOIDE ASOCIADO A MUCOSAS (MALT)

Fig. 8-2. Distribución de los principales órganos y tejidos linfoides en todo el cuerpo.

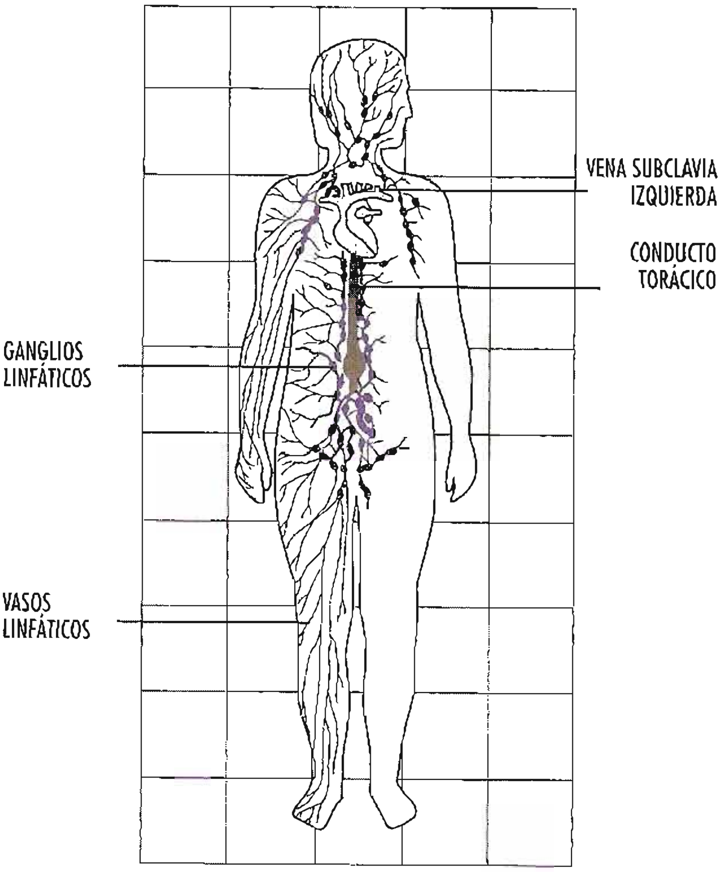

VENA SUBCLAVIA IZQUIERDA
CONDUCTO TORÁCICO
GANGLIOS LINFÁTICOS
VASOS LINFÁTICOS

Fig. 8-3. Red de ganglios linfáticos y linfáticos. Los ganglios linfáticos aparecen en las uniones de los linfáticos de drenaje. La linfa finalmente se acumula en el conducto torácico y de ahí retorna al torrente sanguíneo, a través de la vena subclavia izquierda.

sionante, que drena las vísceras y las estructuras corporales más superficiales antes de retornar a la sangre a través del conducto torácico (fig. 8-3).

La comunicación entre estos tejidos y el resto del organismo se mantiene por un pool de linfocitos recirculantes, que pasan desde la sangre a los ganglios linfáticos, el bazo y otros tejidos, y nuevamente a la sangre a través de los canales linfáticos mayores como el conducto torácico (figs. 8-4 y 8-10).

TRÁFICO DE LINFOCITOS ENTRE LOS TEJIDOS LINFOIDES

Este tráfico de linfocitos entre los tejidos, el torrente sanguíneo y los ganglios linfáticos permite que las células sensibles a los antígenos los busquen y sean reclutadas en sitios en los cuales se está desarrollando una respuesta, mientras que la diseminación de las células de memoria y su progenie permite organizar una respuesta más amplia en todo el sistema linfoide. Así, las células reactivas al antígeno sufren una depleción del pool de linfocitos circulantes dentro de las 24 horas en que el antígeno se localiza por primera vez en los ganglios linfáticos o el bazo; varios días más tarde, después de su proliferación en el sitio de localización del antígeno, en el conducto torácico aparece un pico de células activadas. Cuando el antígeno alcanza un ganglio linfático en un animal programado, en los linfáticos eferentes hay una caída espectacular en la producción de células, fenómeno designado como "cierre celular" o "atrapamiento de linfocitos", que se cree es el resultado de la liberación de factores solubles desde las células T inducida por el antígeno (véase las citocinas, pág. 201); esto es seguido por una producción de blastos activados que alcanza un máximo aproximadamente a las 80 horas.

Los linfocitos se dirigen a sus tejidos específicos

Los linfocitos vírgenes ingresan en un ganglio linfático a través de los linfáticos aferentes y por pasaje guiado a través del **endotelio de pared alta de las vénulas poscapilares** (high-walled endothelium of the post-capillary venules-HEV) especializado (fig. 8-5). Endotelios de este tipo posibilitan el tránsito de células vinculadas en la inmunidad de las mucosas a las placas de Peyer. En otros casos que

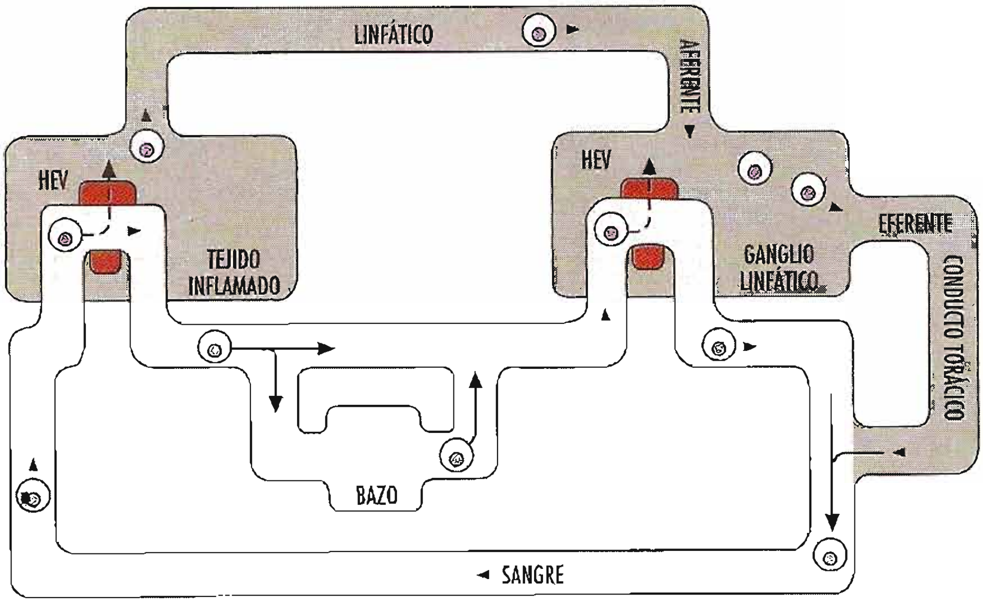


Fig. 8-4. Tráfico y recirculación de linfocitos a través del tejido linfoide encapsulado y los sitios de inflamación. Los linfocitos transportados por sangre entran en los tejidos y ganglios linfáticos atravesando el endotelio de paredes altas de las vénulas poscapilares (HEV) y salen a través de los linfáticos de drenaje. Los linfáticos eferentes, que finalmente salen desde el último ganglio en cada cadena, se unen para formar el conducto torácico por el que retornan los linfocitos a la circulación sanguínea. En el bazo, que carece de HEV, los linfocitos ingresan en el área linfoide (pulpa blanca) desde las arteriolas, pasan hacia los sinusoides del área eritroide (pulpa roja) y salen por la vena esplénica. El tráfico a través del sistema inmune de las mucosas se detalla en la figura 8-10.

involucran la migración en tejidos normales e inflamados, los linfocitos se unen a endotelios más planos no especializados y los atraviesan. Los linfoblastos y las poblaciones de células de memoria muestran migración limitada al tejido hacia los tejidos extralinfoides, como la piel o el epitelio mucoso, mientras que los linfocitos, así como los neutrófilos y los monocitos, se dirigen y migran a sitios de inflamación en respuesta a mediadores producidos en forma local.

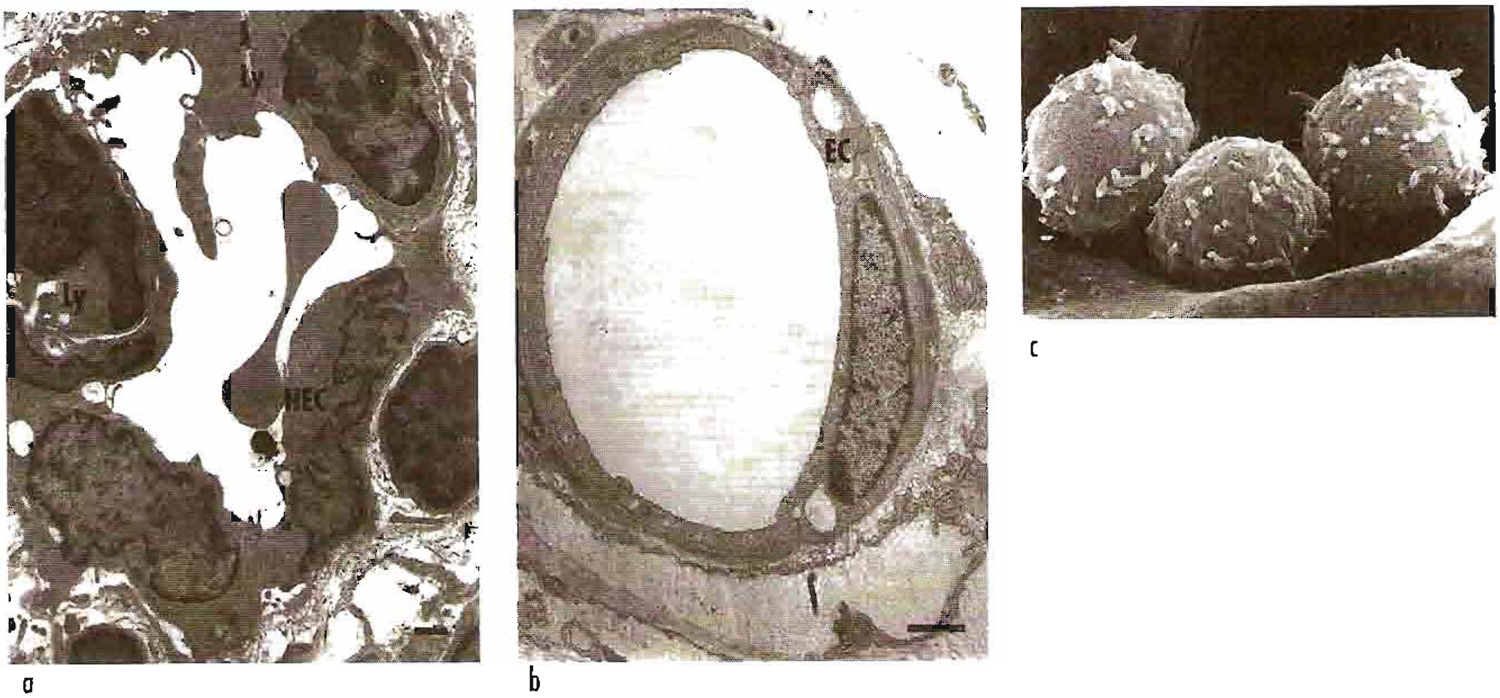


Fig. 8-5. Asociación de los linfocitos con las vénulas poscapilares. a) Células endoteliales de paredes altas (HEC) de las vénulas poscapilares en los ganglios linfáticos cervicales de la rata, que muestran la íntima asociación con linfocitos (Ly). **b)** Célula del endotelio capilar (EC) aplanada para comparación. **c)** Linfocitos que adhieren a las HEC (microfotografía electrónica de barrido). **a)** y **b)** provistas por gentileza de la doctora Ann Ager y **c)** del doctor W. van Ewijk.)

Este tráfico organizado en grado sumo se orquesta dirigiendo los linfocitos relevantes a diferentes partes del sistema linfoide y a los otros tejidos, mediante una serie de **receptores de guía** que incluyen miembros de la superfamilia de las **integrinas** (cuadro 8-2) y también un miembro de la familia de las selectinas, la L-selectina. Las integrinas pueden unirse a la matriz extracelular, a las proteínas plasmáticas y a otras moléculas de la superficie celular, además están ampliamente involucradas en la embriogénesis, el crecimiento, la diferenciación, la adhesión, la mortalidad de las células, la muerte celular programada y el mantenimiento de los tejidos. Dentro del sistema inmune sus ligandos complementarios incluyen las **adresinas vasculares** de superficie, presentes en el endotelio de los vasos sanguíneos apropiados (fig. 8-6). Éstas actúan como puertas selectivas que permiten que poblaciones particulares de linfocitos tengan acceso al tejido apropiado (cuadro 8-3). Las quimiocinas como SLC ("secondary lymphoid tissue chemokine", quimiocina del tejido linfoide secundario), presentadas por el endotelio vascular, desempeñan un papel clave para desencadenar la detención de los linfocitos; los receptores de las quimiocinas están involucrados en la regulación positiva funcional de las integrinas. Con respecto a los linfocitos y las células dendríticas destinados a la piel, la E-selectina sobre el endotelio reconoce el antígeno leucocitario cutáneo (CLA) sobre estas células.

Cuadro 8-2. *Superfamilia de las integrinas. En general, las integrinas están vinculadas con la adhesión intercelular y la adhesión a los componentes de la matriz extracelular. Muchas de ellas también están involucradas en la transducción de señales celulares. Son heterodímeros con cadenas α únicas pero relacionadas, que pueden agruparse en subgrupos, cada uno de los cuales tiene una cadena β común. La subfamilia VLA adopta su nombre de VLA-1 y VLA-2 que aparecieron como antígenos muy tardíos ("very late antigens", VLA) en las células T, 2-4 semanas después de la activación in vitro. Sin embargo, VLA-3, VLA-4 y VLA-5 pertenecen a la misma familia pero no son "muy tardíos" y se encuentran en diferentes grados en linfocitos, monocitos, plaquetas y quizá en progenitores hematopoyéticos. Una estructura denominada dominio I (insertado) se presenta en muchas subunidades de integrinas y contiene el sitio de adhesión dependiente de iones metálicos ("metal ion-dependent adhesión site", MIDAS), que en presencia de Mg^{2+} participa en la fijación del motivo Arg.Gly.Asp. (RGD) sobre muchos de los ligandos esenciales para la adhesión celular*

Integrina	Subunidades	Grupo CD*	Expresión	Ligando
Proteínas VLA				
VLA-1	$\alpha_1\beta_1$	CD49a/CD29	Amplia	LM, CO
VLA-2	$\alpha_2\beta_1$	CD49b/CD29	Amplia	LM, CO
VLA-3	$\alpha_3\beta_1$	CD49c/CD29	Amplia	FN, LM, CO, EN
VLA-4	$\alpha_4\beta_1$	CD49d/CD29	Amplia	FN, VCAM-1
VLA-5	$\alpha_5\beta_1$	CD49e/CD29	Amplia	FN
VLA-6	$\alpha_6\beta_1$	CD49f/CD29	Amplia	LM
Integrinas leucocitarias				
LFA-1	$\alpha_L\beta_2$	CD11a/CD18	Leucocitos	ICAM-1, ICAM-2, ICAM-3
CR3 (Mac-1)	$\alpha_M\beta_2$	CD11b/CD18	N, Mo, LGL	ICAM-1, C3bi, FG, FX
p150,95	$\alpha_X\beta_2$	CD11c/CD18	M, Mo, N	C3bi, LPS
	$\alpha_D\beta_2$	CD11d/CD18	M tisular	ICAM-3
LPAM-1	$\alpha_4\beta_7$	CD49d/ND	Linfocitos	MAdCAM-1, VCAM-1, FN
	$\alpha_E\beta_7$	CD103/ND	Células T intraepiteliales	E-cadherina
Citoadhesinas				
GPIIb/IIIa	$\alpha_{IIb}\beta_3$	CD41/CD61	Megacariocitos, plaquetas	FN, VN, FG, VWF, THR
Receptor VN	$\alpha_V\beta_3$	CD51/CD61	Amplia	VN, FN, FG, VWF, THR, TN

CO, colágeno; CR3, receptor del complemento 3; EN, entactina; FG, fibrinógeno; FN, fibronectina; FX, factor X; GPIIb/IIIa, glucoproteínas integrinas IIb y IIIa; ICAM, molécula de adhesión intercelular; LFA, molécula asociada a la función de los linfocitos; LGL, linfocito granular grande; LM, laminina; LPAM, molécula de adhesión a la placa de Peyer linfocítica; M, macrófago; MAdCAM, molécula de adhesión a las células adresinas de las mucosas; Mo, monocito; N, neutrófilo; THR, tromboespondina; TN, tenascina; VCAM, molécula de adhesión a las células vasculares; VLA, antígeno muy tardío (¡aunque no todos son expresados tarde!); VN, vitronectina; VWF, factor de von Willebrand. *Los marcadores CD se explican en la página 163. ND, no se ha designado aún un CD.

La transmigración se produce en tres etapas

Paso 1: adherencia y rotación

Para que el linfocito se adhiera a la célula endotelial, debe superar las fuerzas de cizallamiento creadas por el flujo sanguíneo. Esto se logra por medio de una fuerza de atracción entre los receptores de guía y sus ligandos sobre la pared del vaso que opera a través de las microvellosidades sobre la superficie del leucocito (fig. 8-6). Después de este proceso de adherencia, el linfocito rota a lo largo de la célula endotelial y las integrinas VLA-4 o LPAM-1 sobre el linfocito se unen a sus ligandos sobre el endotelio.

Paso 2: activación de LFA-1 y aplanamiento celular

Este proceso conduce a la activación y el reclutamiento de LFA-1 hacia la superficie no vellosa del

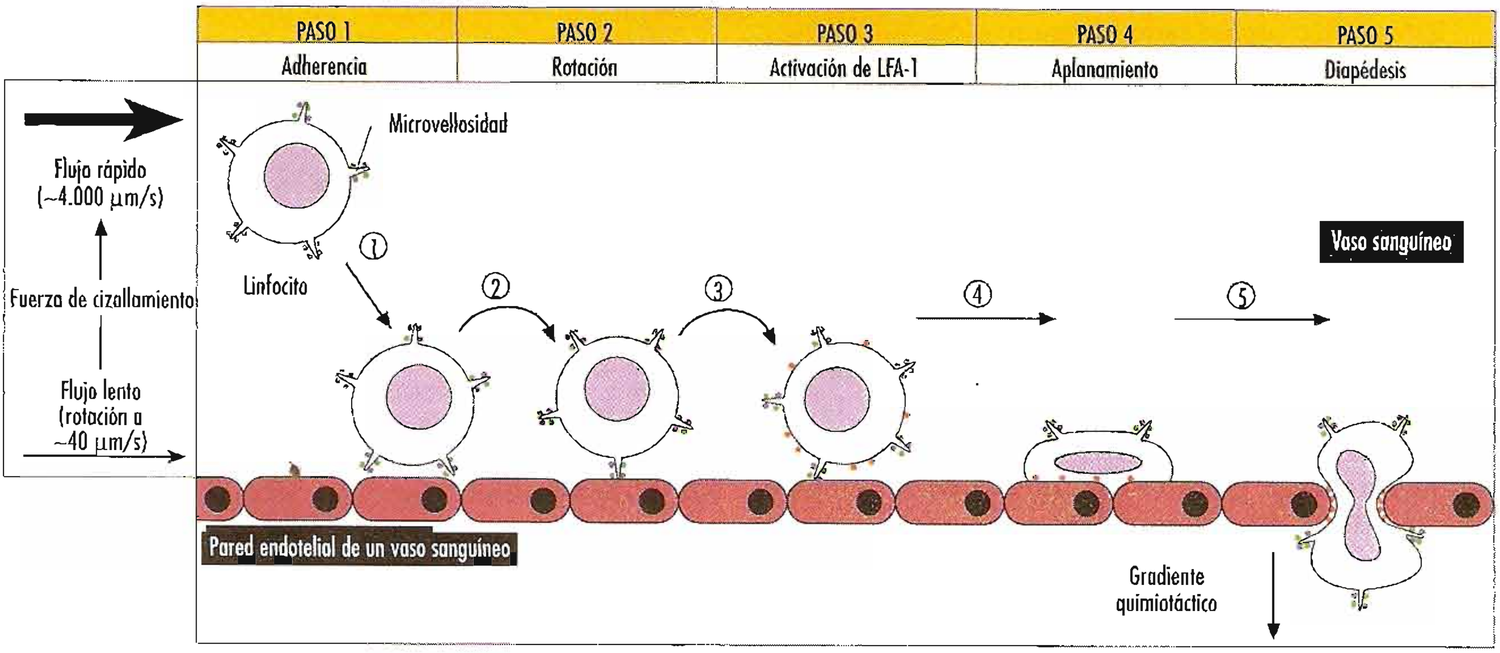


Fig. 8-6. Dirección y transmigración de linfocitos. Los linfocitos de movimiento rápido son fijados (paso 1) a las paredes de los vasos del tejido a los que fueron guiados a entrar mediante una interacción entre receptores de guía específicos, como L-selectina (··) o LPAM-1 (•) localizadas sobre las microvellosidades del linfocito y sus ligandos, por ejemplo GlyCAM-1 o MAdCAM-1, sobre el endotelio de la pared del vaso. Después de rotar a lo largo de la superficie de las células endoteliales (paso 2) se produce la activación de la integrina LFA-1 del linfocito (véase cuadro 8-2) (paso 3, •). Obsérvese que, debido a que esta integrina está ausente de las microvellosidades, se produce una firme fijación del cuerpo del linfocito a sus ligandos, ICAM-1/2, sobre el endotelio. Este proceso da como resultado el aplanamiento celular (paso 4) y la migración del linfocito entre células endoteliales adyacentes, proceso denominado diapédesis (paso 5).

linfocito. Esta integrina se une con mucha fuerza a ICAM-1 e ICAM-2 sobre la célula endotelial, y el contacto íntimo hace que el linfocito se aplane.

Paso 3: diapédesis

El linfocito aplanado utiliza ahora la interacción LFA-1-ICAM y el miembro de la superfamilia de inmunoglobulinas PECAM-1 ("platelet endotelial adhesion molecule", molécula de adhesión al endotelio plaquetario, CD31; no sólo presente en las plaquetas, véase el apéndice 1), para abrirse paso entre las células endoteliales y en el tejido en respuesta a una señal quimiotáctica.

Una mirada más cercana a los receptores interactuantes y sus ligandos

Los ligandos para las selectinas suelen ser moléculas mucinosas cubiertas por parches densos de azúcares con uniones O. Las selectinas por lo general terminan en un dominio de lectina (de ahí el término "selectina"), como podría esperarse dada la naturaleza de los ligandos.

Las selectinas P y E permiten que las células T de memoria que expresan altos niveles de VLA-4 se localicen en sitios de inflamación donde la interacción ulterior con la molécula de adhesión a la célula vascular (VCAM-1) regulada en forma positiva sobre el endotelio inflamado, y con distintos mediadores inflamatorios de citocinas y quimiocinas presentados sobre la superficie de los proteoglucanos de la matriz extracelular, conduce a la transmigración linfocítica. La secreción de heparanasa por parte de la célula T estimulada podría degradar los elementos de la matriz extracelular, lo que facilita el movimiento hacia el área de inflamación.

Tiene mucho sentido guiar los linfocitos previamente activados y de memoria hacia los sitios de inflamación provocados por agentes infecciosos. Lo mismo puede decirse de los mecanismos que permiten a los linfocitos con receptores para el tejido linfoide asociado a mucosas (MALT) circular dentro de las colecciones de tejido linfoide que protegen las superficies externas del cuerpo y entre ellas (véase fig. 8-10). De esta forma, los linfocitos, como los programados para sustentar la síntesis de IgA destinada a la secreción, no pierden tiempo "descansando" en los ganglios linfáticos periféricos encapsulados que no desempeñan ningún papel en la protección de las mucosas.

Cuadro 8-3. *Interacciones ligando-receptor que determinan la guía de poblaciones linfocíticas definidas*

Guía	*Ligando en el endotelio	Receptor sobre el linfocito	Resultado de la interacción				
			Adherencia	Rotación	Activación de LFA-1	Aplanamiento	Diapédesis
Células T vírgenes y de memoria en un ganglio linfático	GlyCAM-1	L-selectina	▨	▨			
	VCAM-1	VLA-4		▨	▨		
	SLC	CCR7			▨		
	ICAM-1/2	LFA-1				▨	▨
Células T vírgenes en las placas de Peyer	MAdCAM-1	L-selectina	▨	▨			
	MAdCAM-1	LPAM-1		▨	▨		
	SLC	CCR7			▨		
	ICAM-1/2	LFA-1				▨	▨
Linfoblastos LPAM-1^{hi} y células T de memoria en la placa de Peyer y la lámina propia	MAdCAM-1	LPAM-1	▨	▨	▨		
	ICAM-1/2	LFA-1				▨	▨
Células T de memoria LPAM-1^{hi} en el sitio de inflamación	P-selectina	PSGL-1 y ESL-1	▨				
	E-selectina	ESL-1	▨				
	VCAM-1	VLA-4		▨	▨		
	ICAM-1/2	LFA-1				▨	▨

*En el ganglio linfático y en las placas de Peyer las moléculas están presentes sobre el endotelio de paredes altas de las vénulas poscapilares (HEV) especializado.
CCR7, receptor de quimiocinas del subgrupo CC-7; ESL, ligando de E-selectina; GlyCAM, molécula de adhesión celular dependiente de la glucosilación; PSGL, ligando glucoproteico de P-selectina; SLC, quimiocina secundaria del tejido linfoide.

GANGLIOS LINFÁTICOS ENCAPSULADOS

El tejido encapsulado del ganglio linfático contiene una malla de células reticulares y sus fibras organizadas en senos. Éstas actúan como un filtro para la linfa que drena los tejidos corporales y que tal vez contenga antígenos extraños, que ingresan en el seno subcapsular por los vasos aferentes y difunden más allá de los linfocitos de la corteza para alcanzar los macrófagos de los senos medulares (fig. 8-7) y desde allí a los linfáticos eferentes (figs. 8-4 y 8-7). Lo que llama mucho la atención acerca de la organización del ganglio linfático es que los linfocitos B y T se encuentran muy separados, en diferentes compartimientos anatómicos.

Áreas de células B

Las agregaciones foliculares de los linfocitos B son una característica sobresaliente de la corteza externa. En el ganglio no estimulado se presentan como colecciones esféricas de células, denominadas **folículos primarios** (fig. 8-7i), pero después de la exposición al antígeno forman **folículos secundarios** (fig. 8-7f), constituidos por una corona o manto de pequeños linfocitos B en reposo y empaquetados en forma concéntrica; poseen tanto IgM como IgD sobre una superficie que rodea un **centro germinativo** de tinción pálida (fig. 8-7b). Éste contiene grandes blastos B, habitualmente en proliferación, una minoría de células T, macrófagos reticulares convencionales dispersos, que contienen "cuerpos teñibles" de linfocitos fagocitados, y una red apretada de **células dendríticas foliculares** (follicular dendritic cell – FDC) especializadas con prolongaciones citoplasmáticas alargadas y algunos lisosomas, o ninguno. Los centros germinativos se encuentran muy agrandados en las respuestas secundarias de anticuerpos, durante las cuales constituyen sitios de maduración de las células B y generación de células B de memoria.

En ausencia de un estímulo antigénico los folículos primarios están compuestos por una malla de células dendríticas foliculares cuyos espacios están llenos de pequeños linfocitos B recirculantes, pero en reposo. Ante el estímulo con una dosis única de un antígeno timodependiente (es decir, el antígeno para el cual las células B necesitan la cooperación de las células T helper; véase pág. 191), la red de células dendríticas foliculares puede ser colonizada hasta por tres blastos B primarios, que crecen en forma exponencial y producen alrededor de 10^4 de los denominados centroblastos; éstos desplazan las células B en reposo originales, que ahora forman el

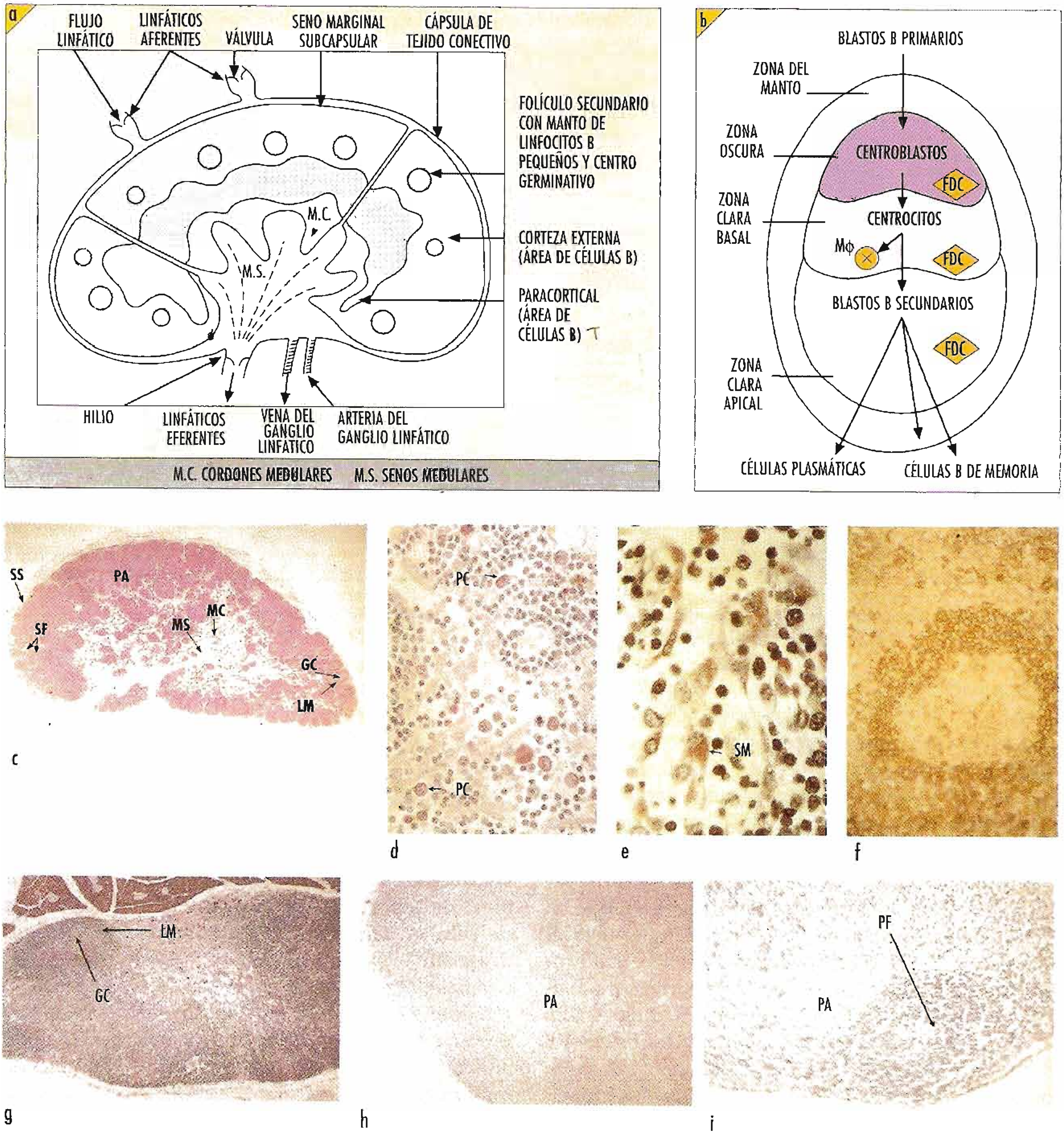

a
FLUJO LINFÁTICO
LINFÁTICOS AFERENTES
VÁLVULA
SENO MARGINAL SUBCAPSULAR
CÁPSULA DE TEJIDO CONECTIVO
FOLÍCULO SECUNDARIO CON MANTO DE LINFOCITOS B PEQUEÑOS Y CENTRO GERMINATIVO
CORTEZA EXTERNA (ÁREA DE CÉLULAS B)
PARACORTICAL (ÁREA DE CÉLULAS B) T
M.C.
M.S.
HILIO
LINFÁTICOS EFERENTES
VENA DEL GANGLIO LINFÁTICO
ARTERIA DEL GANGLIO LINFÁTICO
M.C. CORDONES MEDULARES
M.S. SENOS MEDULARES
b
BLASTOS B PRIMARIOS
ZONA DEL MANTO
ZONA OSCURA
CENTROBLASTOS
FDC
ZONA CLARA BASAL
CENTROCITOS
Mϕ
FDC
BLASTOS B SECUNDARIOS
FDC
ZONA CLARA APICAL
CÉLULAS PLASMÁTICAS
CÉLULAS B DE MEMORIA
SS
PA
SF
MS
MC
GC
LM
c
PC
PC
d
SM
e
f
LM
GC
g
PA
h
PF
PA
i

Fig. 8-7. **Ganglio linfático. a)** Representación esquemática del corte transversal de un ganglio entero. **b)** Diagrama que muestra la diferenciación de las células B durante el pasaje a través de las diferentes regiones de un centro germinativo activo. FDC, célula dendrítica folicular; Mϕ, macrófago; x, célula B apoptósica. **c)** Ganglio linfático humano, vista con bajo aumento. **d)** Médula teñida con verde de metileno (DNA)/pironina (RNA) para mostrar el citoplasma basófilo (rosado) de las células plasmáticas con sus abundantes ribosomas. **e)** Seno medular del ganglio linfático que drena el sitio de la inyección de litio carmín que muestra macrófagos que han fagocitado el colorante coloidal (uno está marcado con flechas). **f)** Folículo linfoide secundario que muestra el centro germinativo rodeado por un manto de pequeños linfocitos B teñidos mediante anti-IgD humana marcada con peroxidasa de rábano picante (color pardo). Hay pocas células IgD-positivas en el centro, pero ambas áreas contienen linfocitos B IgM-positivos. **g)** Ganglio de ratón inmunizado con el antígeno timo-independiente, polisacárido SIII de *Pneumococcus*, que muestra una estimulación prominente de los folículos secundarios con centros germinativos. **h)** Tinción con verde de metileno/pironina del ganglio linfático que drena el sitio de piel pintado con el sensibilizador de contacto oxazolona, el cual destaca la expansión y activación generalizadas de las células T paracorticales, siendo los blastos T intensamente basófilos. **i)** El mismo estudio en un ratón con timectomía neontal muestra un nódulo (folículo) primario solitario con ausencia completa de respuesta celular en el área paracortical. GC, centro germinativo; LM, manto linfocítico del folículo secundario; MC, cordones medulares; MS, seno medular; PA, área paracortical; PC, célula plasmática; PF, folículo primario; SF, folículo secundario; SM, macrófago sinusoidal; SS, seno subcapsular. **c)** Fotografiado por el profesor P.M. Lydyard; **d-f)** por el doctor K.A. MacLennan; **g-i)** cortesía del doctor M. De Sousa y el profesor D.M.V. Parrott.)

manto folicular. Estos centroblastos altamente mitóticos, sin IgD de superficie (sIgD) y con muy poca sIgM, se diferencian entonces en centrocitos de zona clara que no cumplen ciclos y comienzan a regular en más su expresión de sIg. En este estadio hay una muerte celular apoptótica muy extensa, que da origen a fragmentos de DNA visibles como "cuerpos teñibles" dentro de los macrófagos, el lugar de reposo final de las células muertas. Los sobrevivientes reciben su entrenamiento final en la zona clara apical. Una proporción de los que son desviados por la vía de las células de **memoria** adoptan la residencia en la población de la zona del manto, el resto se une al pool de células B circulantes. Otras células se diferencian en plasmablastos, con un retículo endoplasmático bien definido, un aparato de Golgi prominente e Ig citoplasmática; estas células migran para convertirse en células plasmáticas en los cordones medulares que se proyectan entre los senos medulares (fig. 8-7d). Esta maduración de las células formadoras de anticuerpos en un sitio alejado de aquel en el que se produjo el desencadenamiento antigénico también se observa en el bazo, en cuya zona marginal predominan las células plasmáticas. Nuestra opinión es que este movimiento de células se produce para impedir la generación de altas concentraciones locales de anticuerpos dentro del centro germinativo, lo que evita la neutralización del antígeno sobre las células dendríticas foliculares y la interrupción prematura de la respuesta inmune.

El resto de la corteza externa también es en esencia una área de células B con células T dispersas.

Áreas de células T

Las células T están confinadas principalmente a una región denominada área paracortical (o timo-dependiente) (fig. 8-7a); en los ganglios obtenidos de niños con deficiencia selectiva de células T (fig. 15-5) o de ratones con timectomía neonatal (fig. 8-7i), se observa que la región paracortical prácticamente se encuentra desprovista de linfocitos. Además, cuando se obtiene una respuesta mediada por células T en un animal normal, digamos por un injerto de piel o por pintar sustancias químicas como cloruro de picrilo en la piel, para inducir hipersensibilidad por contacto, hay una proliferación pronunciada de células en el área timo-dependiente y se observan linfoblastos típicos (fig. 8-7h). Por el contrario, la estimulación de la formación de anticuerpos por el antígeno timo-dependiente, polisacárido SIII de *Pneumococcus*, conduce a la proliferación en los folículos linfoides corticales con el desarrollo de centros germinativos, mientras que la región paracortical se mantiene inactiva, lo que refleja la incapacidad para desarrollar hipersensibilidad celular al polisacárido (fig. 8-7g). Como es de esperar, los ganglios tomados de niños con hipogammaglobulinemia congénita asociada con falta de desarrollo de células B carecen notablemente de folículos primarios y secundarios.

BAZO

En un corte fresco del bazo el tejido linfoide que forma la pulpa blanca se observa como áreas grises circulares o alargadas (fig. 8-8b) dentro de la pulpa roja repleta de eritrocitos que consiste en cordones esplénicos revestidos con macrófagos y sinusoides venosos. Al igual que en el ganglio linfático, las áreas de células T y B están separadas (fig. 8-8a). El bazo es un filtro de sangre muy eficaz, que elimina los eritrocitos y leucocitos en desuso y responde en forma activa a los antígenos transportados por la sangre, más cuando son particulados. Los plasmablastos y las células plasmáticas maduras se presentan en la zona marginal que se extiende en la pulpa roja (fig. 8-8c).

TEJIDO LINFOIDE ASOCIADO A MUCOSAS (MALT)

Los tractos respiratorio, gastrointestinal y genitourinario reciben protección inmunitaria a cargo de acumulaciones subepiteliales de tejido linfoide no limitadas por una cápsula de tejido conectivo (fig. 8-9). Éstas pueden aparecer como colecciones difusas de linfocitos, células plasmáticas y fagocitos en la totalidad del pulmón y la lámina propia de la pared intestinal (fig. 8-9a y b), o como un tejido más claramente organizado con folículos bien formados. En los seres humanos el último incluye las amígdalas lingual, palatina y faríngea (fig. 8-9c), las placas de Peyer del intestino delgado (fig. 8-9d) y el apéndice. El MALT forma un sistema secretor interconectado dentro del cual pueden circular células destinadas a la síntesis de IgA o IgE (fig. 8-10).

En el intestino, el antígeno ingresa en las placas de Peyer (fig. 8-9d), a través de células epiteliales especializadas (véase fig. 8-15), y estimula los linfocitos sensibles al antígeno. Después de su activación, éstos drenan en la linfa y, después de un viaje a través de los ganglios linfáticos mesentéricos y el conducto torácico, pasan del torrente sanguíneo a la lámina propia (fig. 8-10), donde se convierten en cé-

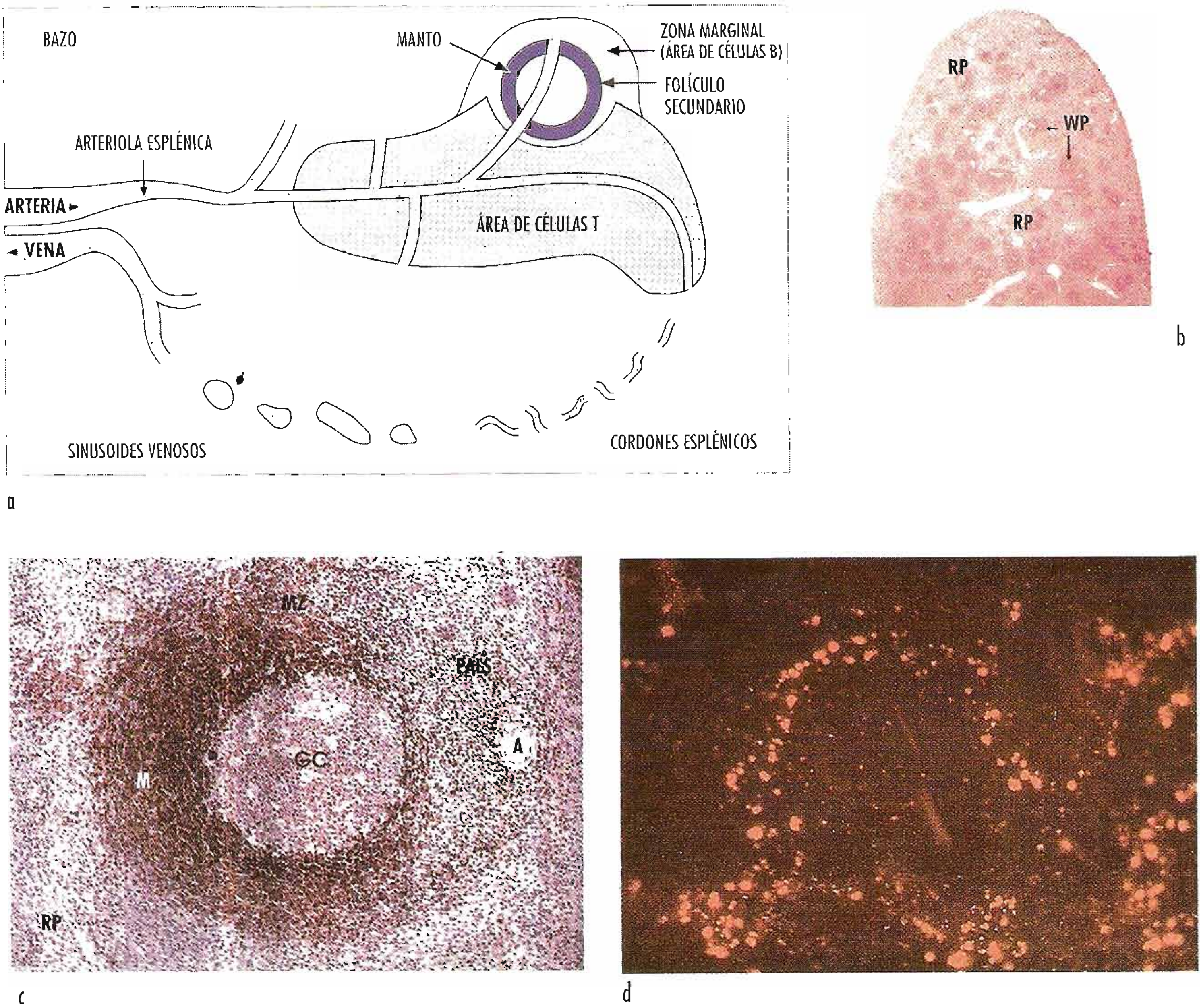


Fig. 8-8. Bazo. a) Representación esquemática. **b)** Vista con bajo aumento que muestra la pulpa blanca (WP) y la pulpa roja (RP) linfoide. **c)** Vista con gran aumento del centro germinativo (GC) y el manto linfocítico (M) rodeados por la zona marginal (MZ) y la pulpa roja (RP). Adyacente al folículo, una arteriola (A) está rodeada por la vaina linfoide periarteriolar (PALS) constituida en forma predominante por células T. Obsérvese que la zona marginal sólo está presente por encima del folículo secundario. **d)** Localización del antígeno timoindependiente, ficoll, sobre los marcrófagos de la zona marginal. El ficoll se visualiza mediante marcación con el colorante fluorescente rojo tetrametilo-rodamina. **b)** Fotografiado por el profesor P.M. Lydyard; **c)** por el profesor I.C.M. MacLennan; **d)** provisto por gentileza del profesor J.H. Humphrey.)

lulas formadoras de IgA. Éstas, por hallarse ahora ampliamente distribuidas, protegen una zona amplia del intestino con anticuerpos protectores. Las células también aparecen en el tejido linfoide del pulmón y en otros sitios mucosos, guiadas por las interacciones de receptores de guía específicos con adresinas apropiadas del endotelio de pared alta de las vénulas poscapilares, como se analizó antes. Asimismo, la inmunización intranasal es particularmente eficaz para generar producción de anticuerpos en el tracto genitourinario.

Linfocitos intestinales

La **lámina propia** intestinal alberga sobre todo una población de células T activadas con alto contenido en integrina LPAM-1 (cuadro 8-2), el ligando para MAdCAM-1 sobre las vénulas poscapilares de la lámina propia (fig. 8-11). Estas células T tienen un fenotipo más o menos comparable al de los linfocitos en sangre periférica: es decir > 95% del receptor de células T (TCR) αβ y una relación CD4:CD8 de 7:3. Dentro de la lámina propia tam-

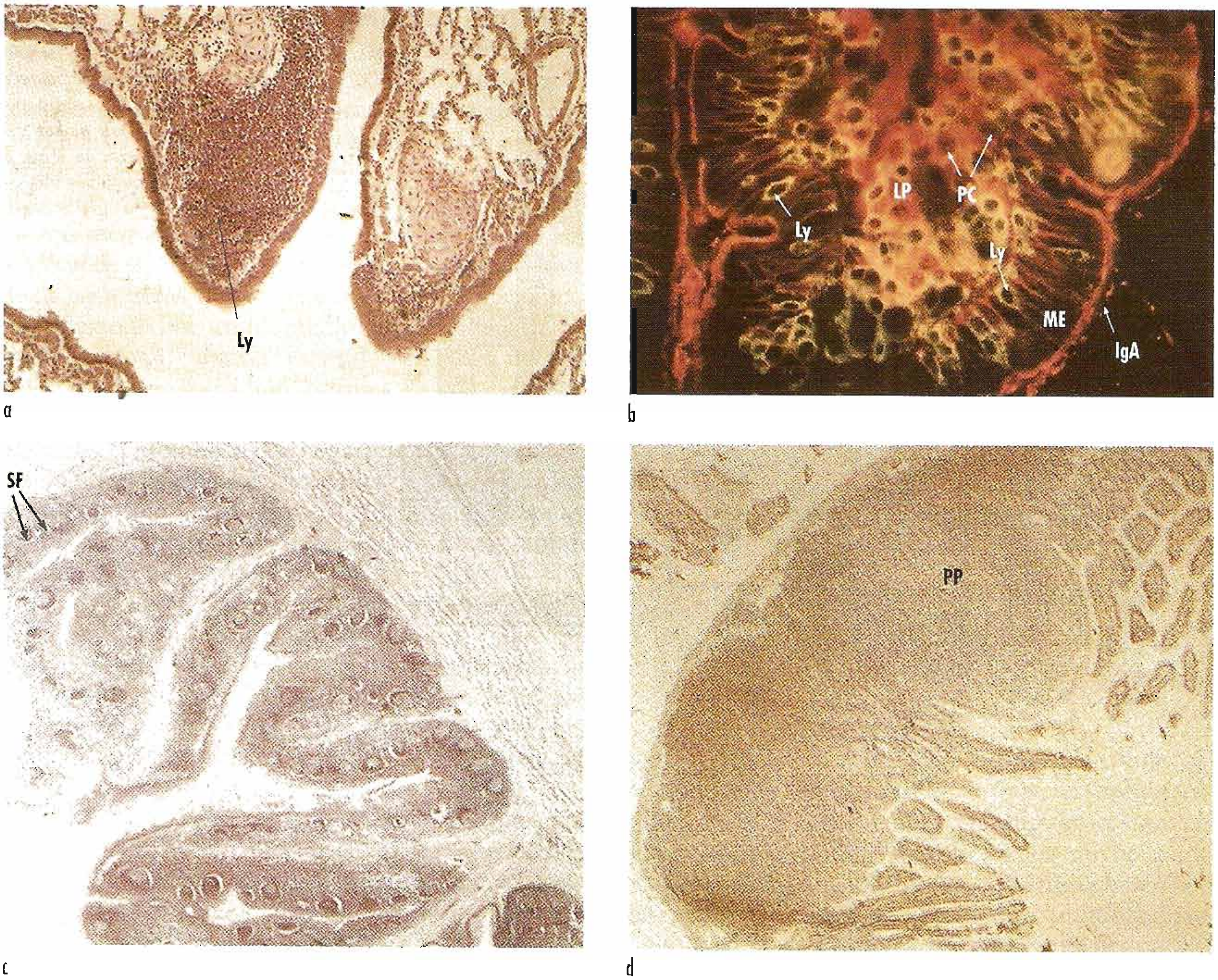


Fig. 8-9. El sistema inmune secretorio de IgA (MALT). a) Corte de pulmón que muestra una acumulación difusa de linfocitos (Ly) en la pared bronquial. **b)** Corte del yeyuno humano que muestra células linfoides (Ly), teñidas de verde por un anticuerpo monoclonal antileucocitario fluorescente, en el epitelio mucoso (ME) y en la lámina propia (LP). Un conjugado de anticuerpos monoclonales-IgA fluorescente rojo tiñe el citoplasma de las células plasmáticas (PC) en la lámina propia y detecta IgA en el moco superficial; en conjunto, ¡una figura soberbia! **c)** Vista con poco aumento de la amígdala humana que muestra el MALT con numerosos folículos secundarios (SF), los cuales contienen centros germinativos. **d)** Placas de Peyer (PP) en el íleon del ratón. Las áreas de células T se tiñen de pardo con un anticuerpo monoclonal contra Thy 1 marcado con peroxidasa. **a)** Proporcionado por gentileza del profesor P. Lydyard; **b)** por el profesor G Jannosy; **c)** por el señor C Symes y **d)** por el doctor E Andrew.)

bién existe una dispersión generosa de blastos B activados y células plasmáticas que secretan IgA para el transporte por el receptor de poli-Ig hasta la luz intestinal (véase pág. 58).

Los linfocitos **intraepiteliales intestinales** constituyen un revoltijo muy diferente. También son en su mayoría células T, el 10-40% de las cuales tiene un TCR γδ. De los que poseen un TCR αβ la mayoría son CD8 positivos y pueden dividirse en dos poblaciones. Un tercio de ellos posee la forma convencional de CD8, un heterodímero compuesto por una cadena α de CD8 y una cadena β de CD8. Sin embargo, dos tercios expresan un homodímero αα de CD8, que se encuentra casi con exclusividad en los linfocitos intraepiteliales. Mientras los linfocitos intraepiteliales CD8 αβ están restringidos por las moléculas clásicas del CMH clase I, los linfocitos intraepiteliales CD8 αα parecen reconocer moléculas no clásicas del CMH (véase pág. 85) que tal vez incluyen TL y Qa1 pero no, aparentemente, CD1. La especificidad de antígeno de la mayoría de los linfocitos intraepiteliales se desconoce. Los linfocitos intraepiteliales y las células dendríticas intraepiteliales expresan altos niveles de la integrina $\alpha_E\beta_7$ que se une a la E-cadherina sobre las células epiteliales intestinales.

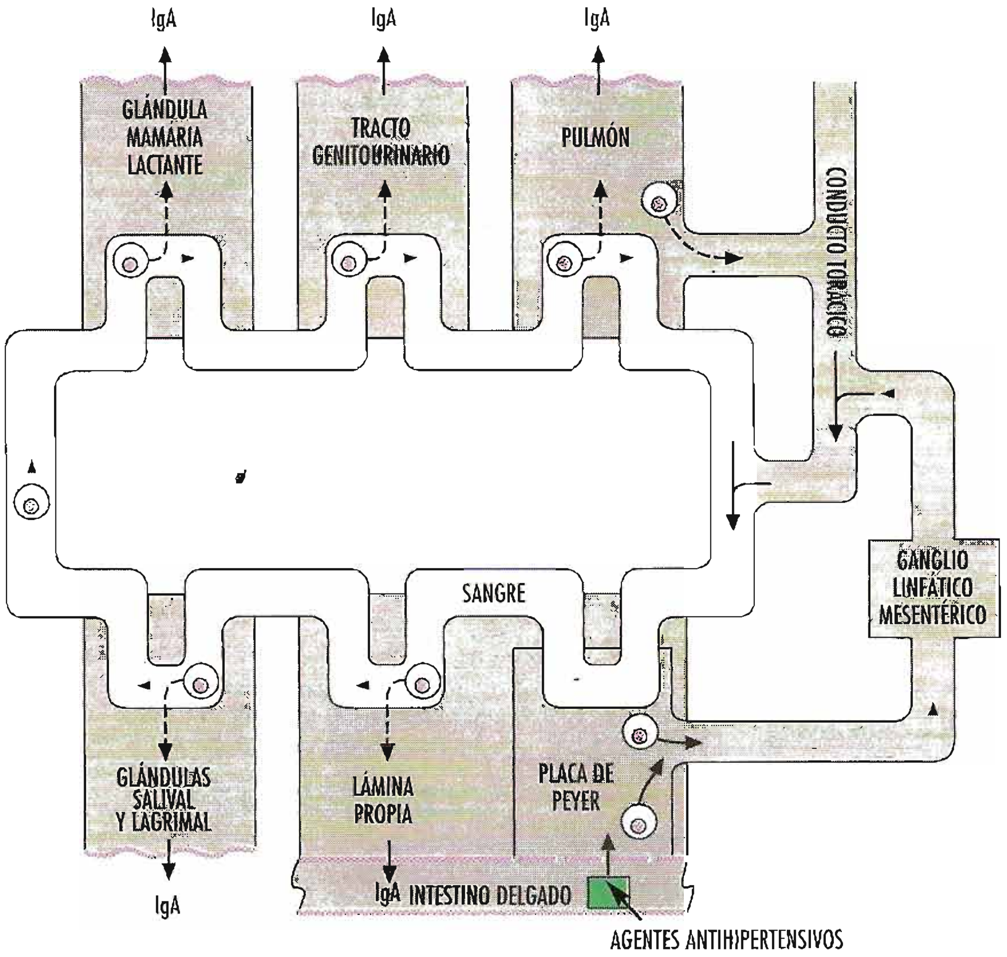

IgA
IgA
IgA
GLÁNDULA MAMARIA LACTANTE
TRACTO GENITOURINARIO
PULMÓN
CONDUCTO TORÁCICO
SANGRE
GANGLIO LINFÁTICO MESENTÉRICO
GLÁNDULAS SALIVAL Y LAGRIMAL
LÁMINA PROPIA
PLACA DE PEYER
IgA
IgA INTESTINO DELGADO
AGENTES ANTIHIPERTENSIVOS

Fig. 8-10. Circulación de linfocitos dentro del sistema linfoide asociado a mucosas. Las células estimuladas por antígeno se mueven desde las placas de Peyer, para colonizar la lámina propia y otras superficies mucosas (〰), y forman lo que ha descrito como un sistema inmune de las mucosas común.

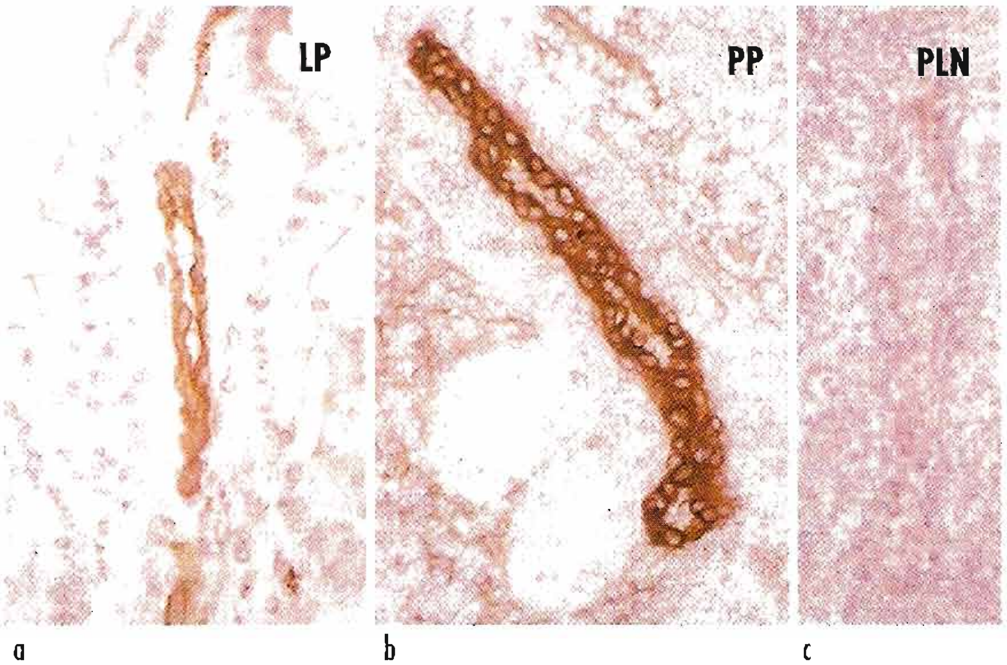

LP
PP
PLN
a
b
c

Fig. 8-11. Expresión selectiva de la adresina vascular de la mucosa MAdCAM-1 sobre el endotelio involucrado en la guía de los linfocitos hacia sitios gastrointestinales. La tinción inmunohistológica pone en evidencia la presencia de MAdCAM-1 **a)** sobre las vénulas poscapilares en la lámina propia del intestino delgado y **b)** sobre el HEV en las placas de Peyer, pero su ausencia **c)** del HEV en los ganglios linfáticos periféricos. (Reproducido con autorización de Butcher E.C. y col. (1999) *Advances in Immunology* 72,209.) Al menos algún componente del tráfico intestinal parece operar como un subcomponente de un sistema inmune de las mucosas común (véase la figura 8-10); el MAdCAM-1 está en gran parte ausente del tracto genitourinario, el pulmón, la glándula salival y lagrimal, aunque está presente sobre el endotelio vascular en la glándula mamaria.

La proporción relativamente alta de células TCR γδ también es inusual y la mayoría de éstas también expresan el CD8 αα característico de los linfocitos intraepiteliales. Dado que se ha observado que algunas de las células T γδ clonadas tienen especificidad para las proteínas del shock térmico, que se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza y por lo general son muy inmunógenas, se ha postulado que actúan como una primera línea relativamente primitiva de defensa en las superficies externas del organismo.

Reflexione por un momento en el hecho de que más o menos 10^{14} bacterias residen en la luz intestinal del ser humano adulto normal. Es una cantidad bastante impresionante de "ceros" por soportar. No obstante, combinados con la barrera de las mucinas producidas por las células caliciformes y la zona protectora de los anticuerpos IgA secretados, estas colecciones de linfocitos intestinales representan una línea de defensa crucial.

No sólo el intestino tiene un sistema inmune localizado, compuesto principalmente por linfocitos T residentes; grupos similares parecen aplicarse a la piel y al hígado. Los antígenos no clásicos del CMH parecen desempeñar un papel importante en estas localizaciones especializadas, con los miembros de la familia relacionados con la cadena del CMH clase I (MIC) MICA y MICB (véase pág. 86) implicados en la activación de los linfocitos intraepiteliales TCR γδ y CD1 en la presentación de antígenos a las células T NK del hígado (véase pág. 113).

LA MÉDULA ÓSEA PUEDE SER UN SITIO IMPORTANTE DE SÍNTESIS DE ANTICUERPOS

Algunos días después de una respuesta secundaria, las células B de memoria activadas migran hasta la médula ósea, donde maduran y se transforman en células plasmáticas (fig. 8-12). La médula ósea es una fuente importante de Ig sérica; contribuye hasta con un 80% de las células totales secretoras de IgG en el ratón de 100 semanas de edad. El tejido linfoide periférico responde con rapidez al antígeno, pero sólo por un período relativamente corto, mientras que la médula ósea comienza lentamente y brinda una producción masiva duradera de anticuerpos contra los antígenos que en repetidas oportunidades desafían al huésped.

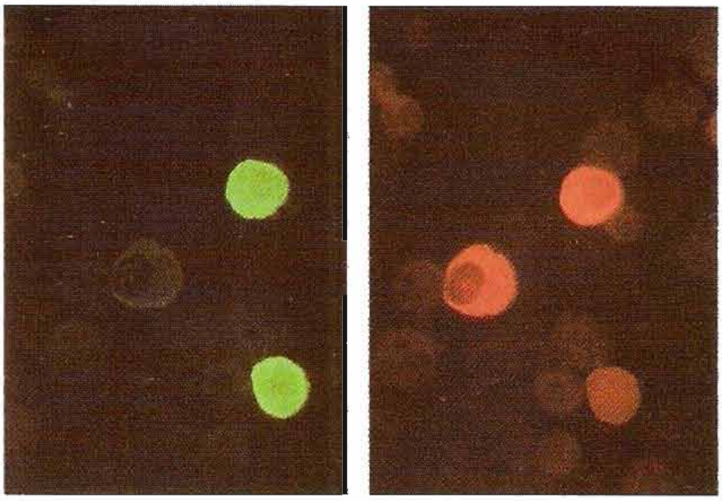


Fig. 8-12. Células plasmáticas en la médula ósea humana. Preparación de citocentrifugación teñida con rodamina (rojo) para la cadena pesada de IgA y con fluoresceína (verde) para la cadena liviana lambda. Una célula es IgA.λ, otra es IgA.no-λ y la tercera es no-IgA. λ positiva. (Fotografía aportada por entileza de los doctores Benner, Hijmans y Haajman.)

EL USO DE SITIOS PRIVILEGIADOS

Ciertas partes seleccionadas del organismo, como el encéfalo, la cámara anterior del ojo y los testículos, han sido designadas **sitios inmunitarios privilegiados**, en el sentido de que los antígenos que se localizan en su interior no provocan reacciones contra sí mismos. Por ejemplo, por mucho tiempo se ha sabido que los injertos de córneas heterólogas pueden adoptar una residencia prolongada y algunos virus se han expandido a través del pasaje repetido a través del encéfalo de animales.

En términos generales, los sitios privilegiados están protegidos por barreras hemato-hísticas bastante fuertes y poco permeables a los compuestos hidrófobos y los sistemas de transporte mediados por transportadores. Niveles funcionalmente insignificantes de complemento reducen la amenaza de reacciones inflamatorias agudas y concentraciones extraordinariamente altas de inmunomoduladores, como IL-10 y factor de crecimiento transformador β (TGFβ; véase pág. 201), proporcionan a los macrófagos capacidad inmunosupresora. El privilegio inmune también se puede mantener por apoptosis de células autoagresivas inducida por Fas(CD95). Lesley Brent lo expresó bastante bien: "Puede suponerse que es beneficioso para el organismo no convertir la cámara anterior del ojo o el encéfalo en un campo de batalla inflamatorio, porque la respuesta inmune a veces es más nociva que la agresión antigénica que la provocó".

Sin embargo, las reacciones inflamatorias en la barrera hematoencefálica pueden abrir las puertas a la invasión por merodeadores inmunitarios; así lo atestigua la incapacidad de los injertos de córnea de ser aceptados si hay una inflamación local preexistente.

LA MANIPULACIÓN DEL ANTÍGENO

¿Dónde se dirige el antígeno cuando ingresa en el organismo? Si penetra en los tejidos, tiende a terminar en los ganglios linfáticos de drenaje. Los antígenos que se encuentran en el tracto respiratorio superior o en el intestino son atrapados por el MALT local, mientras que los antígenos en la sangre provocan una reacción en el bazo. Los macrófagos en el hígado filtran los antígenos transportados por la sangre y los degradan sin producir una respuesta inmune, dado que no están ubicados de manera estratégica con respecto al tejido linfoide.

Los macrófagos son las células presentadoras de antígenos generales

"Clásicamente", siempre se ha reconocido que los antígenos que drenan en el tejido linfoide son captados por los macrófagos. Entonces los antígenos son degradados por completo o en parte en los lisosomas; algunos pueden escapar de la célula en una forma soluble para ser captados por otras células presentadoras de antígeno y una fracción puede reaparecer en la superficie, ya sea como un fragmento grande o como un péptido procesado con moléculas de histocompatibilidad mayor clase II. Aunque los macrófagos residentes en reposo no expresan CMH clase II los antígenos suelen hallarse en el contexto de un agente infeccioso microbiano, que puede inducir la expresión de la clase II por sus propiedades similares a las coadyuvantes que involucran moléculas como lipopolisacárido (LPS) bacteriano. La célula presentadora de antígeno debe tener antígeno sobre su superficie para que haya una activación eficaz de los linfocitos. Hay muchas pruebas de que los macrófagos pulsados con antígeno pueden estimular células T y B específicas tanto in vitro como cuando son inyectados de nuevo in vivo. Algunos antígenos, como los hidratos de carbono poliméricos como el ficoll no pueden degradarse porque los macrófagos carecen de las enzimas necesarias; en estos casos, en la zona marginal del bazo (véase la figura 8-8d) o el seno subcapsular del ganglio linfático, macrófagos especializados atrapan y presentan el antígeno a las células B directamente, al parecer sin ningún procesamiento o intervención de las células T.

Las células dendríticas interdigitantes presentan antígenos a los linfocitos T

A pesar de este impresionante relato del poderoso macrófago en la presentación de antígenos, hay una función donde en apariencia es deficiente: el cebado (programación) de linfocitos vírgenes (no estimulado). Los animales que han sufrido la depleción de macrófagos, mediante la captación selectiva de liposomas que contienen el fármaco difosfonato de diclorometileno, son tan buenos como sus controles con macrófagos intactos para responder a los antígenos timodependientes. Debemos arribar a la conclusión de que hay células distintas de los macrófagos que programan a las células T helper; en la actualidad en general se acepta que se trata de las células dendríticas interdigitantes (interdigitating dendritic cells – IDC). Estas células, que provienen de la médula ósea, tienen la impresionante capacidad de procesar cuatro veces su propio volumen de líquido extracelular en una hora, lo cual facilita la captura y el procesamiento del antígeno en sus compartimientos con abundante CMH clase II intracelular (MIIC; véase pág. 105).

Las IDC son la *crème de la crème* de las células presentadoras de antígeno y, cuando son pulsadas con antígeno antes de inyectarlas en animales, suelen producir respuestas inmunes espectaculares. En esta conexión es relevante destacar que gran cantidad de estas células dendríticas puede generarse a partir de la sangre periférica por cultivo con factor estimulador de colonias de granulocitos-macrófagos (GM-CSF) (véase pág. 201), para promover la proliferación, e IL-4, para suprimir el crecimiento excesivo de los macrófagos; esto significa que es perfectamente factible contemplar su uso para inmunoterapia, por ejemplo, pulsando células dendríticas autólogas con los antígenos tumorales del paciente y luego reinyectarlas para generar una respuesta inmune.

Las células dendríticas inmaduras en la sangre destinadas a convertirse en células de Langerhans de la piel expresan antígeno leucocitario cutáneo (cutaneous leukocyte antigen - CLA), que dirige su destino hacia la piel a través de la interacción con E-selectina sobre células endoteliales vasculares relevantes, como ocurre para las células T cutáneas. Las células de Langerhans, y las células dendríticas en otros tejidos, actúan como agentes de muestreo de antígeno. Sólo son moderadamente fagocíticas, pero despliegan una gran actividad de endocitosis. Los receptores involucrados en la captura de los antígenos, que incluyen el receptor de manosa y los receptores de inmunoglobulinas FcγRII, FcεRI y FcεRII, están expresados en altas concentraciones.

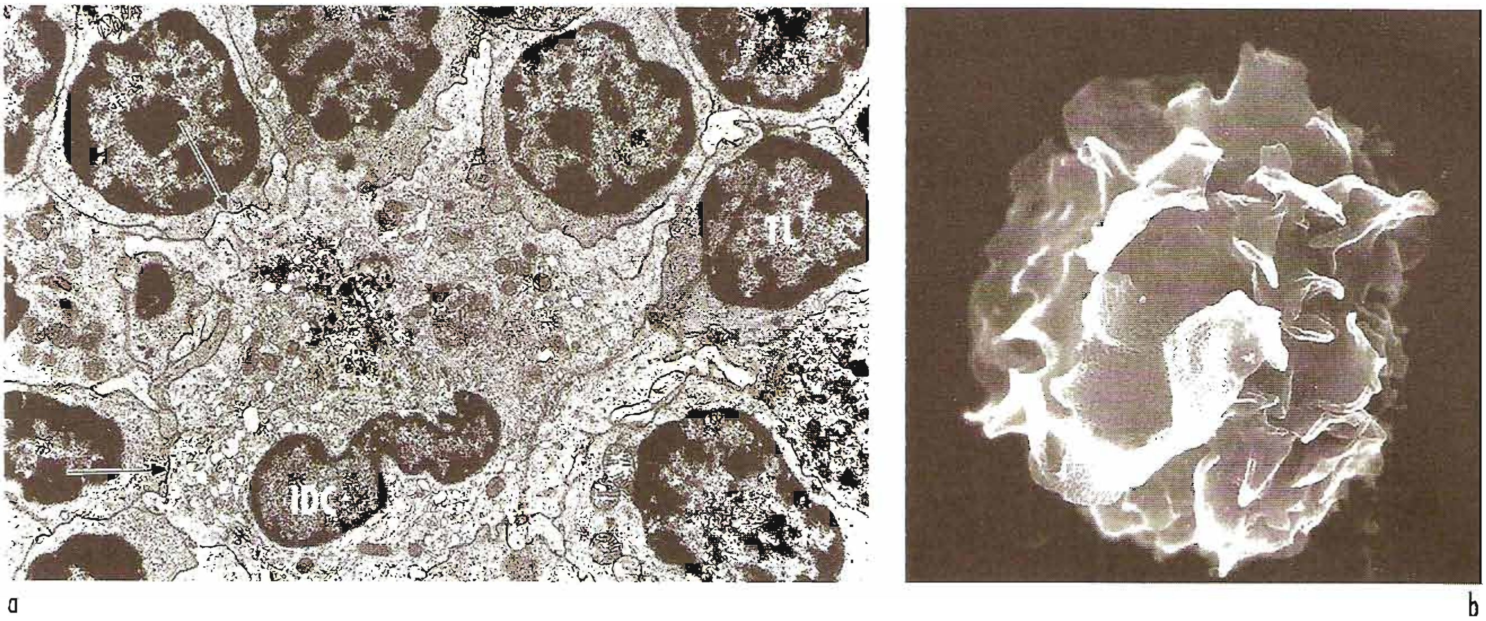


Fig. 8-13. **Célula dendrítica presentadora de antígeno.** **a)** Célula dendrítica interdigitante (IDC) en el área timodependiente del ganglio linfático de la rata. Se cree que es una célula presentadora de antígeno derivada de la célula de Langerhans en la piel y de las células dendríticas en otros tejidos, que viaja hasta el ganglio en la linfa aferente como una célula "velada" que tiene antígeno sobre sus profusas prolongaciones de superficie. Se forman contactos íntimos con las membranas de superficie (flechas) de los linfocitos T (TL) circundantes. El citoplasma de la célula IDC contiene relativamente pocas organelas y no muestra gránulos de Birbeck (organelas citoplasmáticas con forma de raqueta, características de la célula de Langerhans), aunque algunas IDC en los ganglios linfáticos poseen estos gránulos, tal vez después de la estimulación antigénica (× 2.000). **b)** Micrografía electrónica de barrido de una célula velada. Al contrario de estas células dendríticas que presentan el antígeno a las células T, las células dendríticas foliculares en los centros germinativos estimulan a las células B. **a)** Reproducido con autorización de los autores y editores de Kamperdijk EWA, Hoefsmit EChH, Drexhage HA y Balfour BH (1980). En: Van Furth R. (ed.) *Mononuclear Phagocytes*, 3ª edición. Rijhoff Editores, The Hague. **b)** Cortesía del doctor GG MacPherson.)

Sin embargo, al contrario de los macrófagos, no expresan cantidades apreciables de FcγRI de alta afinidad. La expresión del CMH clase II de la superficie celular, y de las moléculas de adhesión y coestimulantes, es baja en esta primera etapa de la vida de las células dendríticas. Sin embargo, a medida que se diferencian como células presentadoras de antígeno completamente desarrolladas, disminuyen su actividad fagocítica y endocitótica, muestran niveles reducidos de moléculas involucradas en la captura antigénica, pero aumentan en forma espectacular su CMH clase II y CD1. Las moléculas coestimulantes, como B7.1, B7.2 y CD40, también están reguladas positivamente en esta etapa, al igual que ICAM-1 e ICAM-2, que se cree que contribuyen tanto a las propiedades migratorias como presentadoras de antígenos de estas células. Su expresión de CD4 y de los receptores de quimiocinas CCR5 y CXCR4 (véase cuadro 10-3) significa que son atraídas a las áreas de células T y migran hacia ellas, e incidentalmente se tornan susceptibles a la infección por HIV (véase pág. 357).

Existen pruebas de diferentes poblaciones de IDC, aunque aún es un área que presenta ciertas controversias. Se han descrito dos vías separadas para el desarrollo, una de las cuales comprende células CD1a$^+$CD14$^-$ con características de células de Langerhans, y la otra comprende células CD1a$^-$CD14$^+$ que pueden diferenciarse en células dendríticas dérmicas que carecen de marcadores de células de Langerhans, como gránulos de Birbeck. Otra subdivisión que se ha descrito comprende la capacidad de las células dendríticas de linaje mieloide CD8 α^- murinas para inducir una respuesta de tipo Th2, mientras que las células dendríticas de linaje linfoide CD8 α^+ activan la diferenciación a Th1 (véase pág. 205). Los datos recientes sugieren una situación algo más compleja, con células dendríticas que se originan en diferentes tipos de células progenitoras y el potencial para que surjan tipos funcionalmente diferentes de células dendríticas del mismo progenitor, su función depende de su etapa de maduración y del medio ambiente de citocinas locales.

Está claro que además de su función presentadora de antígenos, las células dendríticas son importantes productores de quimiocinas. Las IDC de los ganglios linfáticos que han madurado a partir de células de Langerhans secretan quimiocinas que atraen las células T, como MDC ("macrophage-derived chemokine", quimiocina derivada de los macrófagos) y TARC ("thymus- and activation-regulated chemokine", quimiocina regulada por el

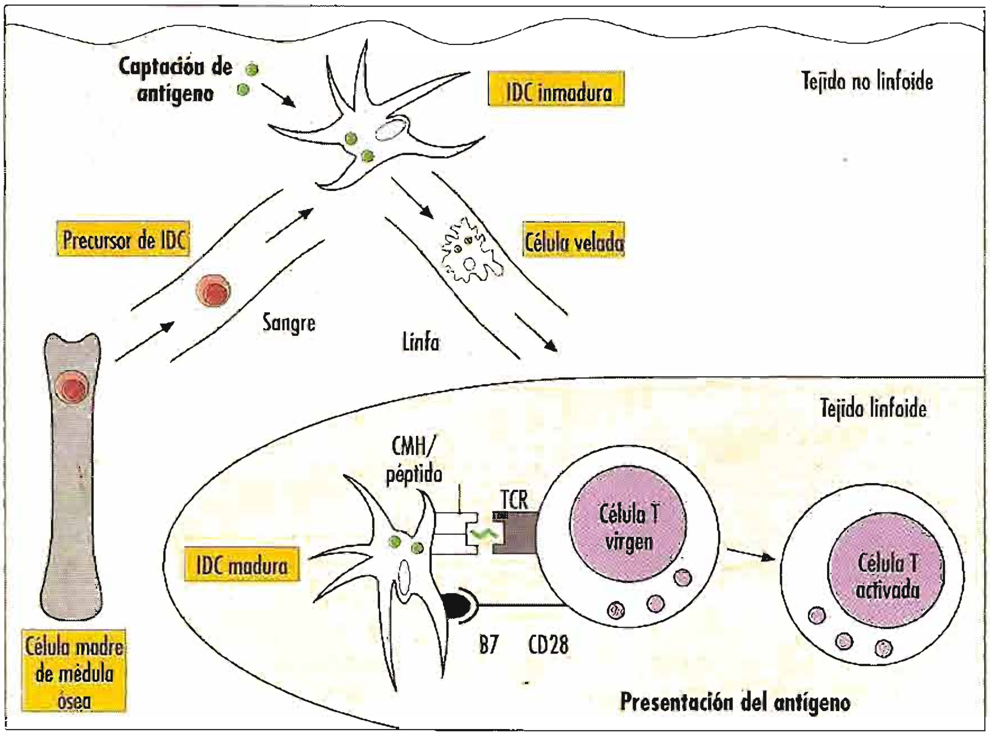


Fig. 8-14. Migración y maduración de las células dendríticas interdigitantes. Los precursores de las IDC derivan de las células madre de la médula ósea, y viajan a través de la sangre hasta los tejidos no linfoides. Estas IDC inmaduras, p. ej., las células de Langerhans en la piel, están especializadas para la captación de antígeno. Con posterioridad viajan a través de los linfáticos aferentes como células veladas (véase figura 8-13b) para adoptar residencia dentro de los tejidos linfoides secundarios (véase figura 8-13a) donde expresan altos niveles de CMH clase II y moléculas coestimuladoras como B7. Estas células son altamente especializadas para la activación de las células vírgenes.

timo y la activación), con producción localizada en regiones de la zona de células T proximales a los folículos linfoides. La MDC y tal vez la TARC atraen las células T que en alguna medida ya están activadas. Una población de células dendríticas en apariencia separada expresa constitutivamente ELC ("EBI-1 ligand chemokine", quimiocina de ligando EBI-1) y SLC ("secondary limphoid tissue chemokine", quimiocina secundaria del tejido linfoide) en la zona de células T y atrae las células T no comprometidas. Por lo tanto, puede haber una primera fase del reclutamiento que involucra células T vírgenes, seguida por una segunda onda de células activadas, lo que aumenta así la posibilidad de un encuentro entre las células dendríticas que tienen antígeno y sus células T antígeno específicas similares. Una vez que estas células se reúnen, se producen algunas interacciones receptor-ligando involucradas en la activación de las células T por las células dendríticas fuera del reconocimiento del CMH-péptido por el TCR. Estas interacciones incluyen reconocimientos B7-CD28, CD40-CD40L, OX40L-OX40 (CD134) y TRANCE ("TNF-related activation-induced cytokine)-receptor TRANCE. Además de la zona de las células T, las IDC también están presentes en los centros germinativos, aunque no en forma tan prominente como las células dendríticas foliculares que se analizan luego. Estas IDC de los centros germinativos pueden desempeñar un papel en la expansión y diferenciación de las células B a través de su producción de citocinas.

Vale la pena destacar que, al contrario de los macrófagos, que en algún sentido son "brutales trituradores de microbios", las células dendríticas no son fuertemente fagocíticas y no necesitan ayuda de los macrófagos en el preprocesamiento de los antígenos particulados, dado que estas respuestas están completamente abolidas en los animales con depleción de macrófagos.

Para resumir, el escenario para la estimulación de las células T parece ser el siguiente. Las células dendríticas inmaduras periféricas, como las células de Langerhans (véase figura 2-6f), que se unen a los queratinocitos cutáneos a través de la expresión de superficie de E-cadherina, pueden captar y procesar el antígeno. A medida que la maduración prosigue, pierden su E-cadherina y producen colagenasa, tal vez para facilitar el paso a través de la membrana basal. Luego viajan como "células veladas" en la linfa (fig. 8-13b) antes de establecerse como IDC, la zona paracortical de células T del ganglio linfático de drenaje (fig. 8-13a). Allí se completa la maduración (fig. 8-14); la IDC entrega el antígeno con señales coestimuladoras para la estimulación potente de células T específicas vírgenes y después de células T específicas activadas, que aprovechan la gran área de superficie para unirse al complejo CMH-péptido sobre la membrana de la IDC.

Encontraremos de nuevo a las IDC en el capítulo 12, cuando analicemos su papel central dentro del timo donde presentan autopéptidos contra las células T autorreactivas en desarrollo y desencadenan

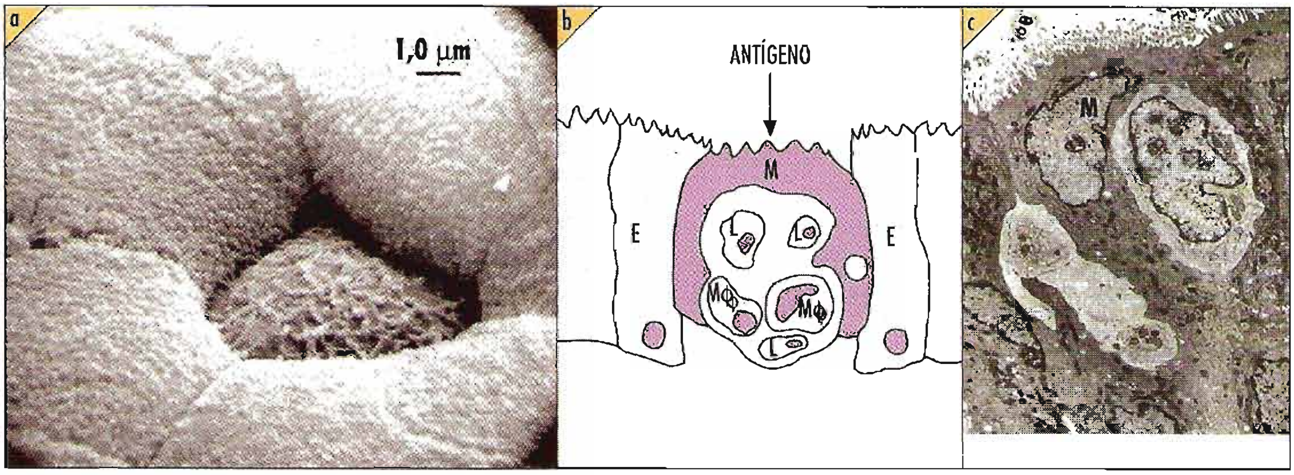


Fig. 8-15. Célula M en el epitelio de la placa de Peyer. a) Microfotografía electrónica de barrido del epitelio de la placa de Peyer. La célula M que muestrea el antígeno en el centro está rodeada por enterocitos absortivos cubiertos por microvellosidades regulares muy próximas entre sí. Obsérvense las microvellosidades irregulares y cortas de la célula M. (Reproducido con autorización de los autores y editores de Kato T y Owen RL (1999). En: Ogran R y col. (eds) *Mucosal Immunology*, 2ª ed. Academic Press, San Diego.) **b)** Después de la captación y el transporte transcelular por la célula M (M), el antígeno es procesado por los macrófagos y luego por las IDC, que presentan el antígeno a las células T en las placas de Peyer y los ganglios linfáticos mesentéricos. E, enterocitos; L, linfocito; Mϕ, macrófagos. **c)** Microfotografía electrónica de una célula M (M en el núcleo) con un linfocito adyacente (L en el núcleo). Obsérvese en las células epiteliales que la de flanqueo, que son enterocitos absortivos con un típico borde en cepillo. En algunos casos, las proteasas sobre la superficie de las células M modifican el patógeno, de modo que pueda adherirse y ser captado. La *Salmonella* patógena puede invadir y destruir las células M; se crea así una solución de continuidad a través de la cual otras bacterias pueden invadir el tejido subyacente. (Citrato de plomo y acetato de uranilo, × 1.600.) **b)** Basado en Sminia T y Kraal G (1998). En: Delves PJ y Roitt M (eds.) *Enciclopedia of Immunology*, 2a ed., pág. 188. Academic Press, Londres.)

su ejecución apoptósica (conocida más gentilmente como "deleción clonal"; véase pág. 259).

Las células dendríticas foliculares estimulan las células B en los centros germinativos

Otro tipo de célula con morfología dendrítica, pero esta vez de tipo mesenquimático, se encuentra dentro de los tejidos linfoides y se denomina **célula dendrítica folicular** (follicular dendritic cell – TDC). Estas células no son fagocíticas y carecen de lisosomas, pero tienen prolongaciones muy alargadas que pueden hacer contacto con numerosos linfocitos presentes dentro de los centros germinativos de los folículos secundarios. Su posesión de FCγRII, FcεRII y receptores del complemento les permite atrapar con mucha eficiencia antígeno que forma complejos y mantenerlo en su forma nativa sobre su superficie durante períodos prolongados, acorde con la función de memoria de los folículos secundarios. Esto explicaría que las respuestas secundarias de anticuerpos puedan ser impulsadas por cantidades muy pequeñas de inmunógeno que se unen a los anticuerpos circulantes y luego fijan C3. Las pruebas para este concepto pueden obtenerse de animales en los que se logra una depleción eficaz del complemento mediante la inyección de factor de veneno de cobra, que contiene el equivalente de C3b en el reptil. Esto activa la vía alternativa del complemento, al formar un complejo con el factor B; pero, debido a su falta de sensibilidad al inactivador de C3 del mamífero, persiste el tiempo suficiente como para descargar el circuito de retroalimentación hasta el agotamiento y producir una depleción completa de C3. En estos ratones no se produce la localización de los complejos antígeno-anticuerpo sobre sus células dendríticas foliculares ni la generación de células B de memoria en respuesta a antígenos timodependientes (véase pág. 191).

Clásicamente, una respuesta secundaria sería iniciada por el antígeno a nivel de las células T helper, solo o formando un complejo que es captado por las IDC y los macrófagos. Sin embargo, la captura de los inmunocomplejos sobre la superficie de las FDC abre una vía alternativa. Uno a tres días después de la exposición secundaria, las dendritas filamentosas sobre las células foliculares, a las cuales están ligados los inmunocomplejos, forman rosarios que se rompen como estructuras denominadas "icosomas" ("immune complex-coated bodies", cuerpos revestidos por inmunocomplejos). Éstos se unen a las células B de los centros germinativos, que luego incorporan por endocitosis el antígeno y lo procesan para su presentación por el CHM clase II de la célula B, y posterior estimulación de las células T helper para desencadenar la respuesta secundaria.

Las células M proporcionan la puerta al sistema linfoide de las mucosas

La superficie mucosa es la línea que enfrenta un mar poco amistoso de microbios y, por lo general, los antígenos son excluidos por el epitelio con sus uniones estrechas y su capa mucosa. El tejido linfoide intestinal se encuentra separado de la luz por una capa de epitelio cilíndrico entremezclado con células de micropliegues (M) (fig. 8-15a) que son células transportadoras de antígeno especializadas, con microvellosidades cortas e irregulares, intensa actividad de esterasa inespecífica y sin CMH clase II. Ellas cubren los linfocitos y los macrófagos intraepiteliales (fig. 8-15b y c). El material extraño, que incluye las bacterias, es captado por las células M y pasado a las células presentadoras de antígeno subyacentes, las cuales, a su vez, migran hasta el tejido linfoide local para activar los linfocitos apropiados.

RESUMEN

Los marcadores de superficie de la célula en el sistema inmune

- Las moléculas de superficie individuales reciben un número de cúmulo de diferenciación (CD) definido por un cúmulo de anticuerpos monoclonales que reaccionan con esa molécula.

Tejido linfoide organizado

- La complejidad de las respuestas inmunes es provista por una estructura sofisticada.
- Los ganglios linfáticos filtran y seleccionan la linfa que fluye desde los tejidos del cuerpo, mientras que el bazo filtra la sangre.
- Las áreas de células T y B están separadas.
- Las estructuras de células B aparecen en la corteza de los ganglios linfáticos como folículos primarios que se convierten en folículos secundarios con centros germinativos después de la estimulación antigénica.
- Los centros germinativos, con sus mallas de células dendríticas foliculares, expanden los blastos de células B producidos por la exposición antigénica secundaria, y dirigen su diferenciación en células de memoria y células plasmáticas formadoras de anticuerpos.

Tejido linfoide asociado a mucosas

- El tejido linfoide que protege el tracto gastrointestinal es no encapsulado y algo estructurado (amígdalas, placas de Peyer, apéndice) o se presenta como colecciones celulares difusas en la lámina propia. Los linfocitos intraepiteliales son principalmente células T e incluyen algunos subgrupos nuevos, p. ej., células que tienen CD8 $\alpha\alpha$, que utilizan moléculas de CMH no clásico como elementos de restricción para la presentación de antígenos.
- Junto con la acumulación subepitelial de células que revisten las superficies mucosas de los tractos respiratorio y genitourinario, este tejido linfoide forma el "sistema inmune secretor", que baña la superficie con anticuerpos IgA protectores.

Otros sitios

- La médula ósea es un sitio importante de producción de anticuerpos
- El encéfalo, la cámara anterior del ojo y el testículo son sitios privilegiados en los cuales los antígenos pueden ser secuestrados sin peligro.

Tráfico de linfocitos

- La recirculación de linfocitos entre la sangre y los tejidos linfoides es guiada por receptores de guía especializados sobre la superficie del endotelio de pared alta de las vénulas poscapilares.
- Los linfocitos se adhieren y luego rotan a lo largo de la superficie de las células endoteliales seleccionadas a través de interacciones entre selectinas e integrinas y sus ligandos respectivos. El aplanamiento del linfocito y la transmigra-

ción a través de la célula endotelial siguen a la activación de LFA-1.

- El ingreso de células T de memoria en los sitios de inflamación es facilitado por la regulación positiva de moléculas de integrina (VLA-4 y LFA-1) sobre el linfocito y los ligandos de unión correspondientes sobre el endotelio vascular (VCAM-1 e ICAM-1/2, respectivamente).

La manipulación del antígeno

- Los macrófagos son células presentadoras de antígenos generales para los linfocitos programados (cebados), pero no pueden estimular las células T vírgenes (no estimuladas).
- Esto es efectuado por células dendríticas de origen hematopoyético, que procesan el antígeno, migran hasta el ganglio linfático de drenaje y se establecen como células dendríticas interdigitantes. Ellas pueden presentar péptidos derivados de los antígenos a las células T vírgenes, iniciando así poderosas respuestas primarias de células T.
- Las células dendríticas foliculares en los centros germinativos unen los inmunocomplejos a su superficie a través de receptores de Ig y C3b. Los complejos poseen una vida prolongada y proporcionan una fuente sostenida de estimulación antigénica para las células B.
- Las células M transportadoras de antígeno especializadas proporcionan la puerta para los antígenos al tejido linfoide de las mucosas.

Véanse preguntas de opciones múltiples en el sitio web correspondiente (www.roitt.com).

LECTURAS ADICIONALES

Barclay A.N. *et al.* (1997) *The Leucocyte Antigen Factsbook*, 2nd edn. Academic Press, London.

Bell D., Young J.W. & Banchereau J. (1999) Dendritic cells. Advances in *Immunology* **72**,255.

Butcher E.C. *et al.* (1999) Lymphocyte trafficking and regional immunity. *Advances in Immunology* **72**,209.

Caligaris-Cappio F. (1998) Germinal centers. In Delves P.J. & Roitt I M. (eds) *Encyclopedia of Immunology*, 2nd edn, p. 992. Academic Cyster J.G. (1999) Chemokines and cell migration in secondary lymphoid organs. *Science* **286**,2098.

Grabbe S., Kampgen, E. & Schuler G. (2000) Dendritic cells: multilineal and multi-functional. *Immunology Today* **21**,431.

Pringault E. (ed.) (1999) M cell development and function in physiology and disease. *Seminars in Immunology* **11**,155.

Shaw S., Turni L.A. & Katz K.S. (eds) *Protein Reviews on the Web (PROW)*. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/prow.

Shimizu Y., Rose D.M. & Ginsberg M.H. (1999) Integrins in the immune system. *Advances in Immunology* **72**,325.

CAPÍTULO 9

Activación de los linfocitos

www.el12cirujano.blogspot.com/

Introducción, 183

Los linfocitos T y las células presentadoras de antígeno interactúan a través de varios pares de moléculas accesorias, 184

La activación de las células T requiere dos señales, 184

La fosforilación de la proteína tirosina es un acontecimiento temprano en la señalización de las células T, 185

Acontecimientos corriente abajo que siguen a la señalización de TCR, 186

- Función Ras, 186
- La vía del fosfatidilinositol, 186
- Control de la transcripción del gen de IL-2, 186
- Consideraciones adicionales sobre la activación de las células T, 187
- Atenuando la exaltación de las células T, 189

Las células B responden a tres tipos diferentes de antígenos, 191

- 1 Antígenos timoindependientes de tipo 1, 191
- 2 Antígenos timoindependientes de tipo 2, 191
- 3 Antígenos timodependientes, 191

La naturaleza de la activación de las células B, 194

- Las células B son estimuladas por enlaces cruzados de la inmunoglobulina de superficie, 194
- Las células T helper activan a las células B en reposo, 195

Resumen, 195

Lecturas adicionales, 197

INTRODUCCIÓN

Las diferencias entre las células T y las células B inmunocompetentes están muy demarcadas en la superficie celular (cuadro 9-1). La discriminación más clara se establece mediante reactivos que reconocen componentes de los receptores antigénicos, anticuerpos monoclonales-CD3 para las células T y antiinmunoglobulina para las células B; en la práctica de laboratorio éstos son los marcadores más utilizados para enumerar las dos poblaciones de linfocitos. La expresión en la superficie de receptores para Ig y complemento también distingue las células T y B, mientras que la formación espontánea de rosetas a través de la unión de eritrocitos de carnero a CD2 a veces se utiliza para la detección y la separación de las células T.

Las diferencias en los marcadores CD, determinadas mediante anticuerpos monoclonales, reflejan propiedades funcionales dispares y, en particular, definen subpoblaciones de células T especializadas. El CD4 es un marcador de las poblaciones de células T helper que promueven la activación y la maduración de las células B y las células T citotóxicas, y controlan las reacciones inflamatorias crónicas específicas de antígeno mediante la estimulación de los macrófagos. Las moléculas CD4 forman enlaces con el *c*omplejo *m*ayor de *h*istocompatibilidad (CMH) clase II sobre la célula que presenta el antígeno. Asimismo, las moléculas CD8 en las células T citotóxicas se asocian con el CMH clase I (fig. 9-1).

También debe prestarse atención a los "mitógenos inespecíficos" que activan poblaciones y a veces subpoblaciones de células T o B en una forma que no está relacionada con la especificidad del antígeno de los receptores de los linfocitos. Ellas reaccionan con estructuras constantes, por oposición a las estructuras sumamente variables, sobre la superficie celular. Por este motivo, a menudo se los denomina activadores policlonales de células B o T (cuadro 9-1). Ya hemos destacado, en el capítulo 5, la capacidad de los superantígenos, como las enterotoxinas del estafilococo, para actuar como activadores policlonales al estimular todas las células B que tienen ciertas familias Vβ de receptores de células T (TCR), independientemente de su especificidad por el antígeno.

LOS LINFOCITOS T Y LAS CÉLULAS PRESENTADORAS DE ANTÍGENO INTERACTÚAN A TRAVÉS DE VARIOS PARES DE MOLÉCULAS ACCESORIAS

La afinidad de un TCR individual por su complejo CMH-péptido antigénico específico es relativamente baja (fig. 9-2); sólo puede lograrse una asociación suficientemente estable con la célula presentadora de antígeno mediante la interacción de pares complementarios de moléculas accesorias como LFA-1/ICAM-1, CD2/LFA-3, etc. (fig. 9-3). Sin embargo, estos acoplamientos moleculares no están vinculados necesariamente con la adhesión intercelular.

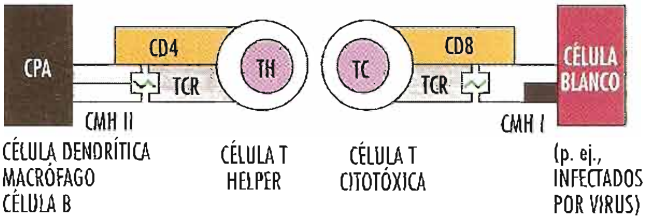


Fig. 9-1. Las subpoblaciones de células T helper y citotóxicas están restringidos por el CMH. El CD4 en las células T helper entra en contacto con el CMH clase II; el CD8 en las células T citotóxicas se asocia con la clase I.

LA ACTIVACIÓN DE LAS CÉLULAS T REQUIERE DOS SEÑALES

Los anticuerpos contra el TCR, ya sea antiidiotipo o anti-CD3, cuando no están en una forma soluble por el acoplamiento con sepharose por sí mismos no activan por completo a las células T helper en reposo. Sin embargo, con el agregado de interleucina-1 (IL-1) se induce la síntesis de RNA y proteínas, la célula aumenta de tamaño hasta tener el aspecto similar a un blasto, comienza la síntesis de interleucina-2 (IL-2) y la célula pasa de la fase G0 a la fase G1 del ciclo mitótico. Por lo tanto, se necesitan dos señales para la activación de la célula T helper en reposo (fig. 9-3). El antígeno asociado con el CMH clase II sobre la superficie de las células presentadoras de antígeno (CPA) es claramente capaz de cumplir estos requerimientos. La formación de complejos entre TRC, antígeno y CMH proporciona la señal 1 a través del complejo receptor-CD3; esto

Cuadro 9-1. *Comparación de las células T y B humanas*

	Células T	Células B
% en sangre periférica	65-80	8-15
RECONOCIMIENTO DE ANTÍGENO	Procesado	Nativo
MOLÉCULAS DE LA SUPERFICIE CELULAR		
Receptor para el antígeno	TCR/CD3	Ig de superficie
CMH clase I	+	+
CMH clase II	sólo después de activación	+
CD2	+	−
CD4	restringida por CMH clase II (helper)	−
CD5	+	sólo sobre subgrupo menor B1a
CD8	restringida por CMH clase I (citotóxica)	−
CD19	−	+
CD20	−	+
CD21 (CR2: C3d y receptor de EBV)	−	+
CD23 (FcεRII)	−	+
CD32 (FcγRII)	−	+
ACTIVACIÓN POLICLONAL	Anti-CD3 Fitohemaglutinina Mitógeno de fitolaca *Enterotoxina de *S. aureus*	Anti-Ig Virus de Epstein-Barr Mitógeno de fitolaca Cepa Cowan I de *S. aureus*

*Superantígeno estafilocócico, respuesta policlonal restringida a ciertas familias de TCR Vβ.

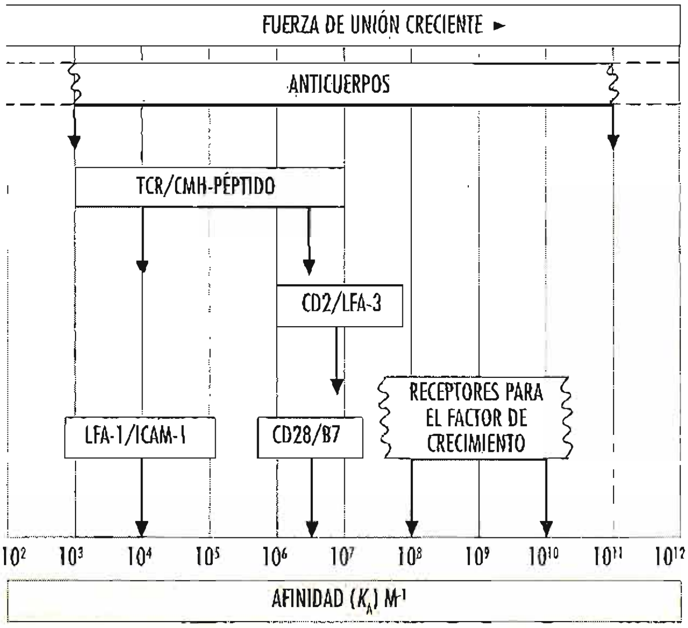


Fig. 9-2. Afinidades relativas de los pares moleculares involucrados en las interacciones entre los linfocitos T y las células presentadoras de antígeno. Se muestran para su comparación las variaciones de afinidades para los factores de crecimiento y sus receptores, y de los anticuerpos. (De Davies MM y Chien Y-H (1993). *Current Opinion in Immunology* 5,45.)

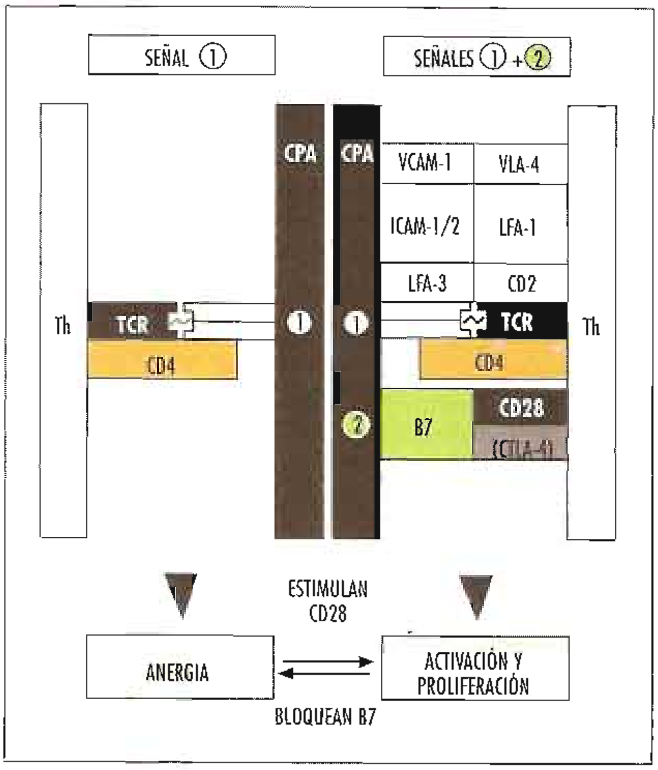


Fig. 9-3. Activación de las células T en reposo. La interacción de las moléculas coestimuladoras conduce a la activación del linfocito T en reposo por la célula presentadora de antígenos (CPA) cuando el receptor de la célula T (TCR) es ocupado por su complejo antígeno-CHM. La participación de la señal 1 del TCR sin la señal 2 coestimuladora acompañante conduce a la anergia. Obsérvese que una célula T citotóxica, más que una célula T helper, por supuesto, comprendería el acoplamiento de CD8 al CMH I. La ocupación de CTLA-4 con B7 regula en menos la señal 1. ICAM-1/2, molécula de adhesión intercelular1-1/2; LFA-1/2, molécula asociada a la función linfocítica-1/2; VCAM-1, molécula de adhesión celular vascular-1; VLA-4, antígeno muy tardío-4. (De Liu Y y Linsley PS (1992). *Current Opinion in Immunology* 4, 265.)

aumenta mucho por el acoplamiento de CD4 con el CMH. Entonces, la célula T está expuesta a una señal coestimuladora 2 proveniente de las CPA. Aunque ésta podría ser IL-1, parecería que B7 es el coestimulador más potente sobre las CPA que se unen al CD28. Así, la activación de las células T en reposo puede ser bloqueada por anti-B7; de manera sorprendente, esto torna a la célula T **anérgica**, o sea no reactiva a cualquier nueva estimulación por el antígeno. Como veremos en los capítulos siguientes, el principio de que dos señales activan pero una puede inducir anergia en una célula específica para el antígeno brinda el potencial para el tratamiento inmunosupresor dirigido. A diferencia de los linfocitos T en reposo, **las células T activadas proliferan en respuesta a una *única* señal**.

Las moléculas de adhesión como ICAM-1, VCAM-1 y LFA-3 no son por sí mismas coestimuladoras, sino que aumentan el efecto de otras señales (fig. 9-3); una distinción importante. Los acontecimientos tempranos de señalización comprenden la agregación de **balsas de lípidos**, compuestas por subdominios de membrana enriquecidos en colesterol y glucoesfingolípidos. Las moléculas de la membrana celular involucradas en la activación se concentran dentro de estas estructuras.

LA FOSFORILACIÓN DE LA PROTEÍNA TIROSINA ES UN ACONTECIMIENTO TEMPRANO EN LA SEÑALIZACIÓN DE LAS CÉLULAS T

La **proteinatirosina cinasa** (PTK) fosforila y por consiguiente activa un precursor de la cinasa, que a su vez cambia a un segundo precursor de cinasa, y así sucesivamente. Ésta es la base de una cascada de fosforilación enzimática que podría ampliar una señal inicial, al igual que la cascada enzimática proteolítica amplía el acontecimiento de activación del complemento (véase pág. 10). Como veremos pronto, ¡estas cascadas de señalización pueden volverse muy extensas! (fig. 9-4); pero paso a paso todo estará bien.

La señal inicial para la activación de las células T a través del TCR aumenta mucho por los enlaces cruzados del TCR con CD4 que lleva a la PTK asociada con CD4, **Lck**, cerca de las **cadenas** ζ asociadas con CD3. Los motivos de activación de inmunorre-

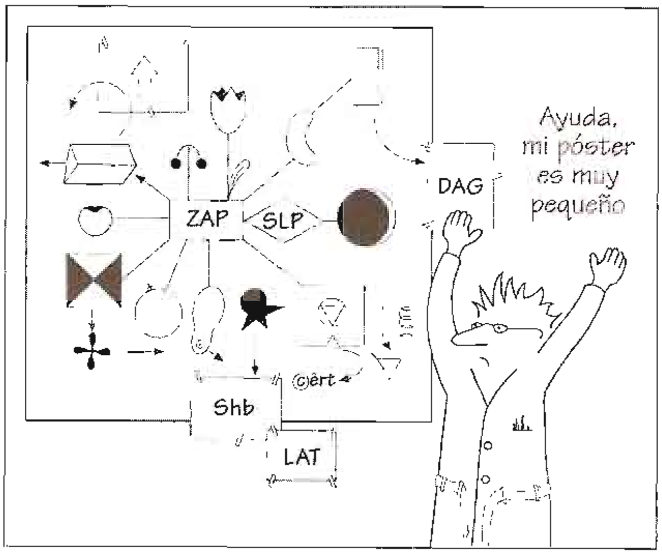

DAG
ZAP
SLP
Shb
LAT
Ayuda, mi póster es muy pequeño

Fig. 9-4. Las vías de señalización pueden tornarse muy complejas. (Reproducido con autorización de Zolnierowicz S y Bollen M (2000). *EMBO Journal* 19, 483.)

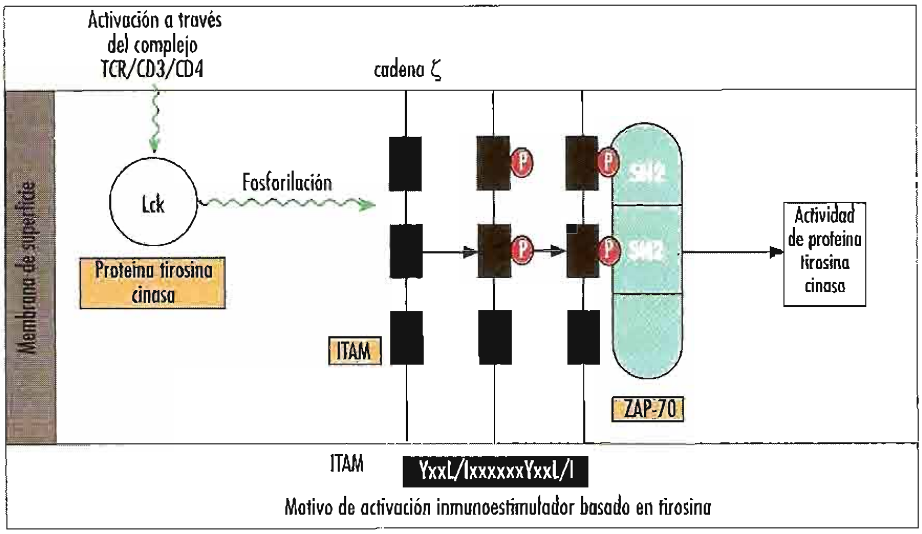

Activación a través del complejo TCR/CD3/CD4
cadena ζ
Membrana de superficie
Lck
Fosforilación
Proteína tirosina cinasa
P
SH2
SH2
Actividad de proteína tirosina cinasa
ITAM
ZAP-70
ITAM
YxxL/IxxxxxxYxxL/I
Motivo de activación inmunoestimulador basado en tirosina

Fig. 9-5. Las señales a través del complejo TCR/CD3/CD4/8 inician una cascada de proteína tirosina cinasa (PTK). La PTK Lck ($p56^{lck}$) fosforila la tirosina dentro de las secuencias ITAM de las cadenas ζ asociadas con CD3. Éstas unen la proteína asociada a ζ (ZAP-70) a través de sus dominios SH2 (homología de Src-2) y éste a su vez adquiere actividad de PTK para la fosforilación corriente abajo de los componentes más tardíos en la cadena. Al contrario de los tres ITAM sobre cada cadena ζ, cada cadena CD3 γ, δ y ε tiene un ITAM único.

ceptores basados en tirosina (ITAM) sobre las cadenas ζ son fosforilados y se unen a los dominios SH2 de **ZAP-70**, que entonces se convierte en una PTK activa (fig. 9-5), capaz de iniciar una serie de acontecimientos bioquímicos corriente abajo. El papel clave de estas tirosina cinasas los fenómenos de señalización proximales mediados es destacado por la capacidad del inhibidor de la PTK herbimicina-A para bloquear por TCR como el recambio de fosfatidilinositol y las manifestaciones más tardías del tipo de la producción de IL-2. Los acontecimientos proximales al receptor están acoplados a las cascadas de señalización corriente abajo mediante **proteínas adaptadoras** no enzimáticas, que se unen a las enzimas necesarias para la transducción de señales.

ACONTECIMIENTOS CORRIENTE ABAJO QUE SIGUEN A LA SEÑALIZACIÓN DEL TCR

Función Ras

Luego de la señalización del TCR hay un aumento temprano en el nivel de los complejos Ras-GTP (guanosina trifosfato) activos, que regulan **proteína cinasas activadas por mitógenos (MAPK)** fundamentales, como JNK o ERK, a través de cascadas secuenciales de cinasas. Así, en una de las cascadas de amplificación de la fosforilación, MEK (MAP-ERK cinasa) actúa como una MAP cinasa cinasa y Raf ¡como una MAP cinasa cinasa cinasa o MAPKKK (fig. 9-6)! Como se muestra en la figura 9-7, ésta es sólo una de algunas vías diferentes involucradas en la activación de las células T. Las MAP cinasas propiamente dichas también pueden ser influidas por el CD28 que opera a través de la fosfatidilinositol 3-cinasa (PI3K). Debemos destacar que los detalles de estas distintas vías aún no están inscriptos en tablas de piedra.

La vía del fosfatidilinositol

Dentro de los 15 segundos de la estimulación del TCR, la isoforma γ1 de la **fosfolipasa C** (PLC γ1), una enzima que (al igual que la isoforma γ2) activa la vía del fosfatidilinositol, es fosforilada y aumenta su actividad catalítica. Este aumento temprano en la actividad de la fosfolipasa C acelera la hidrólisis del fosfaditilinositol 4,5-bifosfato (PIP_2) a diacilglicerol (DAG) e inositol 1,4,5-trifosfato (IP_3) (fig. 9-7). El trifosfato se une a receptores específicos en vesículas especializadas de almacenamiento de calcio y desencadena la liberación de Ca^{2+} en el citosol; esto es complementado por un influjo desde el medio externo. El nivel **elevado de Ca2+** tiene por lo menos dos consecuencias. Primero actúa en forma sinérgica con el diacilglicerol, para activar la **proteína cinasa C** (PKC); segundo, actúa junto con la **calmodulina** para aumentar la actividad de la **calcineurina.**

Control de la transcripción del gen de IL-2

La transcripción de la IL-2 es uno de los elementos clave para evitar que la célula T señalada incurra en anergia y está controlada por múltiples receptores para los factores de transcripción en la región promotora (fig. 9-7). La MAP cinasa JNK fosforila Jun, el cual entonces se une como un complejo binario con Fos en el sitio **AP-1**, cuya deleción corresponde al 90% de la actividad intensificadora de la IL-2.

Bajo la influencia de la calcineurina, el componente citoplasmático del factor nuclear de las células T activadas (**NFAT**$_c$) es activado y se transloca al núcleo, donde forma un complejo binario con NAFT$_n$, su compañero que es expresado constitutivamente en el núcleo. El complejo NAFT se une a dos sitios reguladores de la IL-2 diferentes (fig. 9-7). Obsérvese aquí que el efecto de la calcineurina es bloqueado por los agentes anti-células T ciclosporina y FK506 (véase el capítulo 17). Las vías dependientes de PKC y calcineurina actúan en forma sinérgica para activar la IκB cinasa (IKK) de múltiples subunidades, que fosforila al inhibidor IκB, y lo dirige para su ubiquitinciación y posterior degradación por el proteosoma. La pérdida de IκB del complejo IκB-NFκB expone la señal de localización nuclear sobre el factor de transcripción NFκB, el cual entonces ingresa con suavidad en el núcleo. Además, el factor de transcripción ubicuo **Oct-1** interactúa con motivos de secuencia de unión a octámeros específicos.

Nos hemos concentrado en la transcripción de IL-2 como una consecuencia temprana y central de la activación de las células T, pero se produce la expresión nueva de más de 70 genes dentro de las 4 horas de la activación de las células T, lo que conduce a la proliferación y la síntesis de varias citocinas y sus receptores (véase cap. 10).

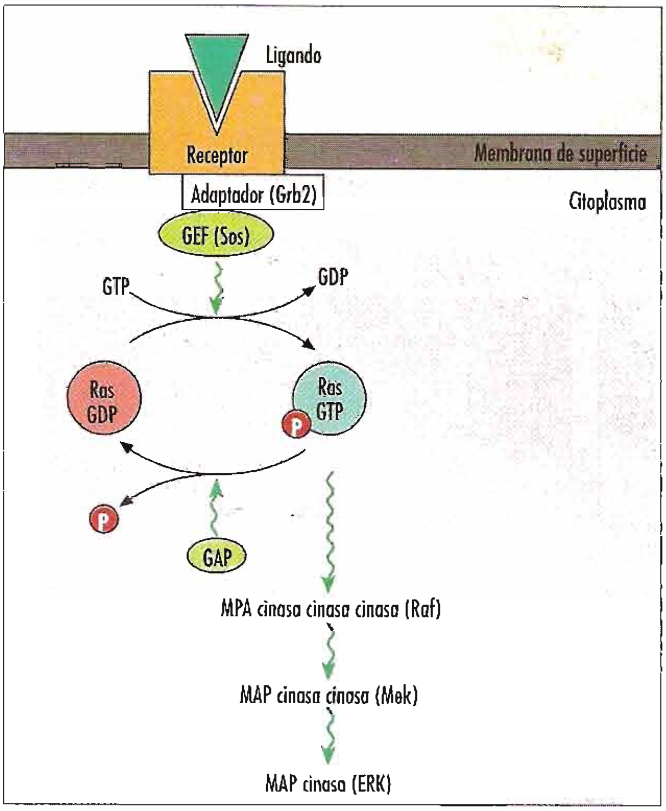


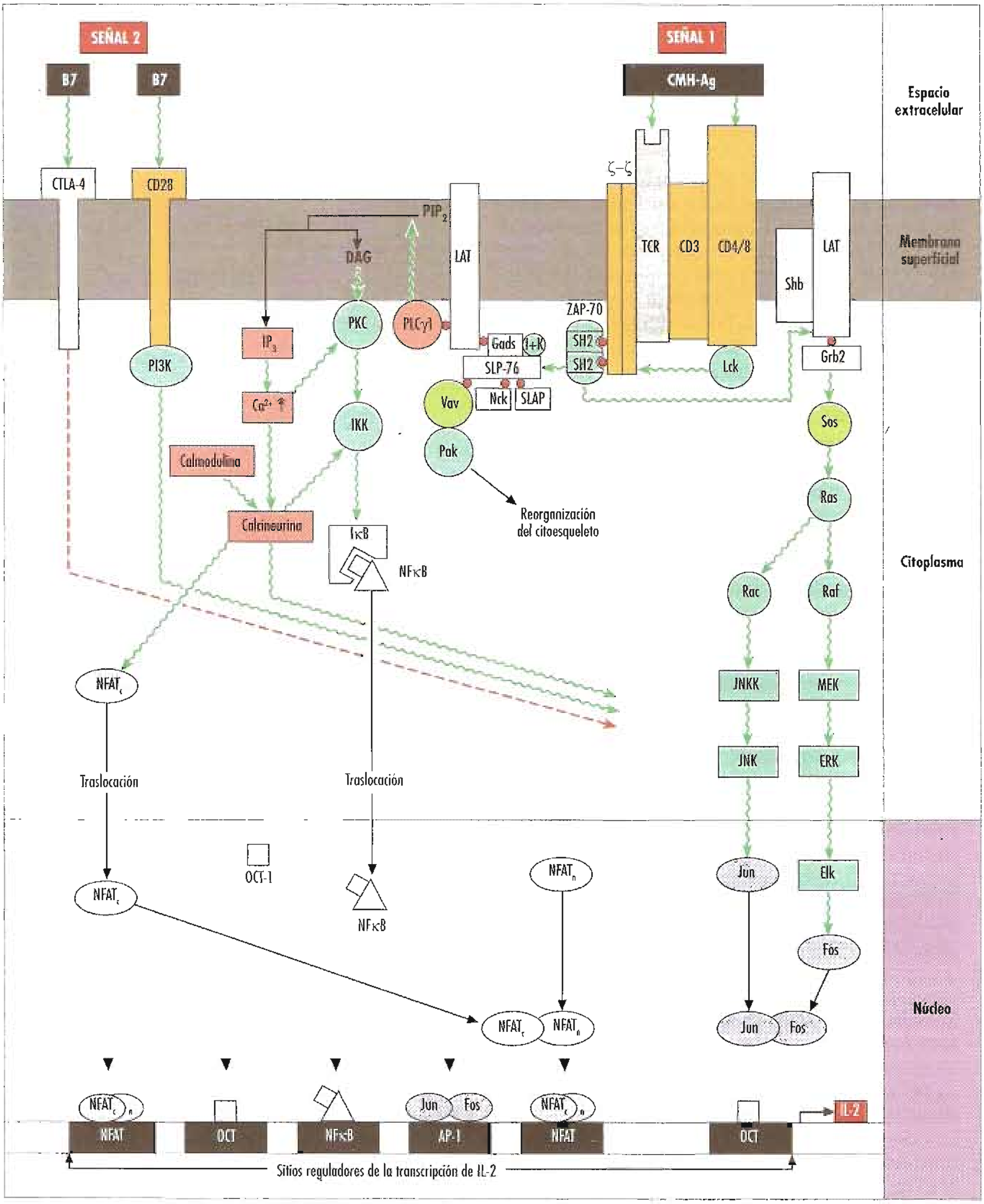
Fig. 9-6. La regulación de la actividad Ras controla las cascadas de amplificación de las cinasas. Algunos receptores de la superficie celular señalan a través de vías reguladas por Ras. El Ras cicla entre Ras-GDP inactivo y Ras-GTP activo, regulado por factores de intercambio de nucleótidos de guanina (GEF), que promueven la conversión de Ras-GDP a Ras-GTP, y por proteínas activadoras de la GTPasa (GAP), que aumentan la actividad de GTPasa intrínseca del Ras. Con la unión del ligando al receptor, las tirosina cinasas del receptor reclutan proteínas adaptadoras, p. ej., Grb2, y proteínas GEF, como Sos ("son of sevenless"), en la membrana plasmática. Estos acontecimientos generan Ras-GTP que activa el Raf. (Modificado con autorización de Olson MF y Marais R (2000). *Seminars in Immunology* 12,63.)

Consideraciones adicionales sobre la desactivación de las células T

Modelo de ocupación en serie del TCR para la activación de las células T

Ya hemos comentado que las principales fuerzas de anclaje que conjugan la CPA y sus contraparte, el linfocito T, deben provenir de moléculas accesorias complementarias, como ICAM-1/LFA-1 y LFA-3/CD2, y no a través de los enlaces TCR-CMH más péptido, de afinidad relativamente baja (fig. 9-3). No obstante, el reconocimiento del antígeno análogo por el TCR sigue siendo una condición *sine qua non* para la activación de las células T. Muy bien, pero ¿cómo pueden tan sólo 100 complejos CMH-péptido sobre una CPA, a través de la formación de complejos de baja afinidad con TCR, ejecutar la tarea hercúlea de mantener un flujo intracelular elevado de calcio durante los 60 minutos necesarios para la activación celular completa? Cualquier caída del flujo de calcio, como podría ser la ocasionada por el agregado de un anticuerpo contra el CMH, hace que el NFAT$_c$ de manera obediente retorne desde el núcleo a su localización citoplasmática, lo que aborta el proceso de activación.

En un hallazgo sorprendente Valitutti y Lazavecchia han mostrado que tan sólo 100 complejos CMH-péptido sobre una CPA pueden regular en menos 18.000 TCR sobre su compañero, el linfocito T análogo. Estos autores sugieren que cada complejo CMH-péptido puede ocupar *en forma seriada* has-


SEÑAL 2
B7
B7
CTLA-4
CD28
SEÑAL 1
CMH-Ag
ζ–ζ
TCR
CD3
CD4/8
LAT
Shb
LAT
PIP2
DAG
PKC
PLCγ1
ZAP-70
SH2
SH2
Gads
(I+K)
SLP-76
Nck
SLAP
Lck
Grb2
PI3K
IP3
Ca2+ ↑
Calmodulina
Calcineurina
IKK
IκB
NFκB
Vav
Pak
Reorganización del citoesqueleto
Sos
Ras
Rac
Raf
JNKK
MEK
JNK
ERK
NFATc
Traslocación
Traslocación
NFATc
OCT-1
NFκB
NFATn
Jun
Elk
Fos
NFATc
NFATn
Jun
Fos
NFATc n
Jun
Fos
NFATc n
IL-2
NFAT
OCT
NFκB
AP-1
NFAT
OCT
Sitios reguladores de la transcripción de IL-2
Espacio extracelular
Membrana superficial
Citoplasma
Núcleo

ta 200 TCR. En su modelo, la conjugación de un dímero CMH-péptido con dos TCR (véase pág. 110) activa la transducción de señales, la fosforilación de las cadenas ζ asociadas con CD3 con los acontecimientos corriente abajo ulteriores y entonces la regulación en menos de esos TCR. La unión de afinidad intermedia favorece la disociación del CMH-péptido; al que lo libera para ocupar y activar otro TCR y de ese modo mantener los acontecimientos de activación intracelulares necesarios. El modelo de acción **agonista** también explicaría por qué los péptidos con interacciones de afinidad más bajas o más altas que lo óptimo podrían comportarse como **antagonistas** (fig. 9-8). El importante fenómeno de los péptidos modificados que se comportan como **agonistas parciales**, con efectos diferenciales sobre el resultado de la activación de las células T, se trata en la leyenda de la figura 9-8.

Fig. 9-7. La señalización de la célula T conduce a la activación. Las señales a través del complejo CMH-antígeno (señal 1) y el coestimulador B7 (señal 2) inician una cascada de proteína cinasas y una elevación del calcio intracelular, lo que activa los factores de transcripción que controlan la entrada en el ciclo celular desde G0 y regulan la expresión de IL-2 y muchas otras citocinas. Itk es miembro de la familia Tec de las cinasas que se asocia con un complejo multimérico que contiene algunas proteínas adaptadoras involucradas en la activación de PLCγ1 y estimula así las vías de IP_3 y DAG. Con la activación por la calcineurina, $NFAT_c$ se trasloca desde el citoplasma hasta el núcleo y forma complejos con el componente nuclear $NFAT_n$. El complejo se une entonces a los sitios de transcripción de NFAT. La IκB cinasa (IKK) media la liberación de NFκB de su inhibidor IκB, desde donde se trasloca hacia el núcleo y se une a un sitio regulador específico. La vía de Ras activa las cinasas Raf, MEK, ERK y Elk, que finalmente activan el factor de transcripción Fos. Ras también activa Rac, que luego fosforila a JNKK, la cinasa que activa a JNK y por último al factor de transcripción Jun, el cual, en un complejo con Fos, se une al sitio de transcripción AP-1. B7 puede desencadenar una señal negativa a través de CTLA-4. Obsérvese que la proteína adaptadora SLAP, también denominada Fyb, puede desempeñar un papel inhibidor en la señalización al abolir la función de SLP-76. El esquema presentado omite varias moléculas que se cree desempeñan papeles adicionales importantes en la transducción de señales. Así como Lyk, otras PTK de la famila Src, como Fyn y Lyn, pueden fosforilar motivos ITAM asociados con algunos receptores que incluyen TCR, BCR y FcR. Los adaptadores transmembrana que no se muestran son SIT (adaptador transmembrana que interactúa con SHP-2) y TRIM (molécula interactuante con el receptor de la célula T); el último puede actuar a través del adaptador Grb2 como un regulador positivo, mientras que SIT puede ser un regulador negativo. Abreviaturas: DAG, diacilglicerol; ERK, cinasa regulada por señales extracelulares; IP_3, trifosfato de inositol; JNK, cinasa *N*-terminal de Jun; LAT, conector para las células T activadas; NFκB, factor nuclear κB; NFAT, factor nuclear de células T activadas; OCT-1, factor fijador de octámeros; Pak, cinasa activada por p21; PI3K, fosfatidilinositol 3-cinasa; PIP_2, difosfato de fosfatidilinositol; PKC, proteína cinasa; PLC, fosfolipasa C; SH2, dominio de homología con Src; SLAP, fosfoproteína asociada a SLP-76; SLP-76, dominio SH2 que contiene uns fosfoproteína de 76kDa específica de los leucocitos; ZAP-70, proteína cinasa asociada a la cadena ζ. ⟶, transducción de señal positiva; - - ➤, transducción de señal negativa; □, proteínas adaptadoras; 🟩, factores de intercambio de nucleótidos de guanina; 🟩, cinasas; □, factores de transcripción; 🟥, otras moléculas.

La sinapsis inmunitaria

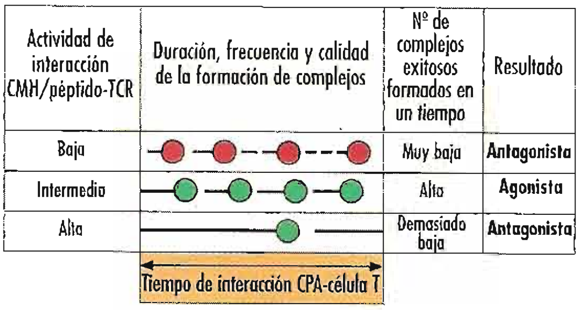
Algunos experimentos en los que se utilizan moléculas de péptido-CMH e ICAM-1, marcadas con diferentes fluorocromos o a las que se inserta en una bicapa lipídica planar sobre un soporte de vidrio, proporcionaron pruebas a favor de la idea de que la activación de las células T se produce en el contexto de una **sinapsis inmunitaria**. Un área de cúmulos de integrinas actúa como un ancla que permite la interacción óptima entre superficies celulares opuestas. Las interacciones TCR-CMH, inicialmente inestables, se producen en un anillo externo amplio que rodea a las integrinas. Las moléculas de péptido-CMH se mueven entonces hacia el centro de la sinapsis cambiando lugares con las moléculas de adhesión que forman ahora el anillo externo (fig. 9-9). Se ha sugerido que la generación de la sinapsis inmunitaria sólo es posible después de que se ha logrado cierto nivel umbral inicial de activación del TCR, y que su formación depende de la reorganización del citoesqueleto y conduce a la potenciación de la señal.

Amortiguamiento de la exaltación de las células T

Con frecuencia reiteramos la premisa de que ningún organismo que se precie permitiría la operación de una empresa en expansión, como es una población de células T en proliferación, sin algún mecanismo de control razonable.

Mientras que CD28 se expresa en forma constitutiva sobre las células T, CTLA-4 no se encuentra sobre la célula en reposo si bien es regulado en más con rapidez luego de la activación. Tiene una afinidad 10 a 20 veces mayor tanto para B7.1 como para B7.2 y, al contrario de las señales coestimuladoras generadas a través de CD28, el compromiso de CTLA-4 por B7 regula en menos la activación de las células T (fig. 9-7), aunque no se conoce el mecanismo por medio del cual lo hace.

Se identificaron algunas moléculas adaptadoras que pueden estar involucradas en el dominio de la activación de las células T. Éstas incluyen SLAP, SIT y miembros de la familia de Cb1. Cb1-1 parece in-



Actividad de interacción CMH/péptido-TCR	Duración, frecuencia y calidad de la formación de complejos	Nº de complejos exitosos formados en un tiempo	Resultado
Baja	—🔴—🔴--🔴---🔴	Muy baja	**Antagonista**
Intermedio	—🟢—🟢—🟢—🟢	Alto	**Agonista**
Alta	————🟢 ——	Demasiado baja	**Antagonista**

Tiempo de interacción CPA-célula T

Fig. 9-8. **Modelo de estimulación en serie de la activación del TCR (Valitutti S y Lanzavecchia A (1995).** *The Immunologist* 3, 122). Los complejos de afinidad intermedia entre CMH-péptido y TCR sobreviven el tiempo suficiente como para que el TCR traduzca una señal de activación exitosa y el complejo CMH-péptido se disocie y que ocupe de manera fructífera otro TCR. Se necesita una tasa elevada y sostenida de formación de complejos exitosos para la activación completa de las células T. Los complejos de baja afinidad tienen una vida media corta, que no tiene ningún efecto sobre el TCR o produce la inactivación, tal vez mediante una fosforilación parcial de las cadenas ζ (🟢, activación exitosa de TCR; 🔴, inactivación del TCR; -, sin efecto: la longitud de la barra horizontal indica la duración de la vida de ese complejo). Al ser de baja afinidad, se reciclan rápido, y ocupan e inactivan gran cantidad de TCR. Los complejos de alta afinidad tienen una vida media tan prolongada de la disociación, que hay una cantidad insuficiente de acontecimientos activadores exitosos. Por lo tanto, los ligandos peptídicos modificados de baja o alta afinidad pueden actuar como antagonistas al impedir el acceso de los agonistas a una cantidad suficiente de TCR vacantes. Algunos péptidos modificados actúan como agonistas parciales ya que producen efectos diferenciales en los resultados de la activación de células T. Por ejemplo, un único cambio de residuo en un péptido hemoglobina redujo 10 veces la secreción de IL-4, pero eliminó por completo la proliferación de células T. El mecanismo presumiblemente comprende acontecimientos de fosforilación incompletos y con traducción insuficiente que tienen lugar a través de una vida media truncada de ocupación del TCR, efectos alostéricos sobre las parejas CMH-TCR o una alineación errónea en la orientación del péptido dentro del complejo. Reproducido con autorización de Hogrefe y Huber Editores.

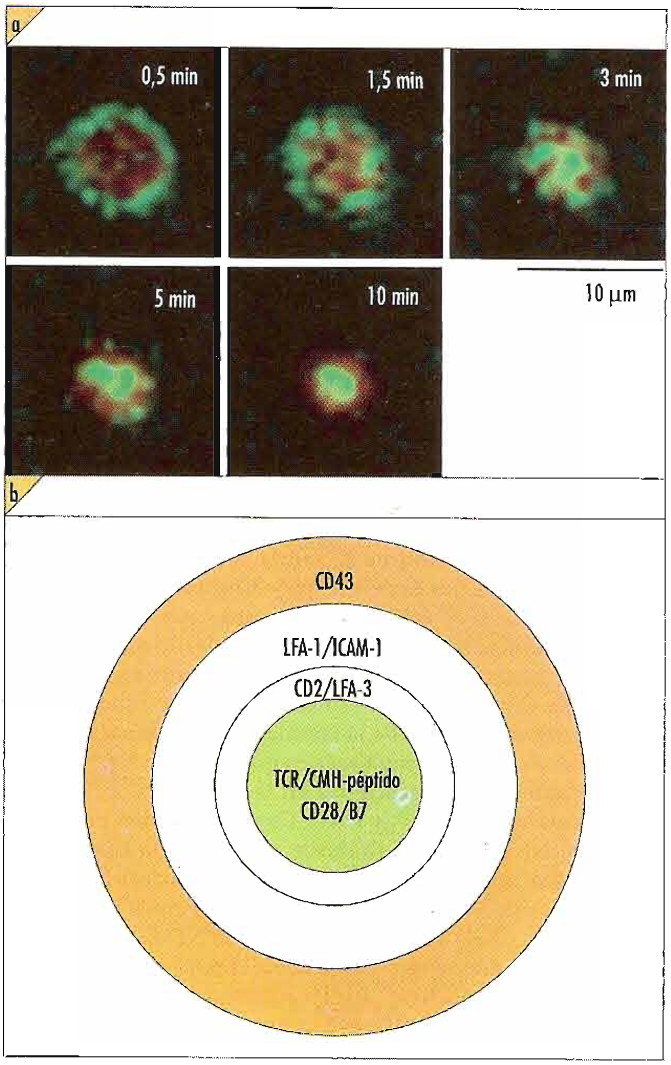


Fig. 9-9. **La sinapsis inmunitaria.** a) Formación de la sinapsis inmunitaria. Las células T entraron en contacto con bicapas lipídicas planares; se muestran las posiciones del CMH-péptido ocupado (verde) e ICAM-1 ocupado (rojo) en los tiempos indicados después del contacto inicial. (Reproducido con autorización de Grakoui A, Dustin ML, et al. (1999). *Science* 285, 221. © American Association for the Advancement of Science.) b) Representación esquemática de la sinapsis resuelta en la cual los pares de moléculas de adhesión CD2/LFA-3 y LFA-1/ICAM-1, que en un comienzo estaban en el centro, se han trasladado hacia el exterior y ahora rodean el reconocimiento del antígeno y la interacción de señalización entre TCR y CMH-péptido así como la interacción coestimuladora entre CD28 y B7. Según publicaciones, la molécula CD43 se une a tres ligandos diferentes, ICAM-1, galectina-1 y CMH clase I, y después de la unión es capaz de inducir la expresión de mRNA de IL-2, CD69 y CD154 (CD40L), además activa la actividad de unión fijadora del DNA de los factores de transcripción AP-1, NFκB y NFAT.

fluir en la dependencia de CD28 de la producción de IL-2 durante la activación de las células T, tal vez a través de un efecto sobre el factor de intercambio de nucleótidos de guanina Vav. Otro miembro de esta familia, Cb1-c, es un regulador negativo de Syk y ZAP-70; por lo tanto puede alterar el umbral de activación de los receptores de antígeno tanto en las células T como B.

Si bien podría ser tentador, las fosfatasas no deben ser consideradas en forma automática como sinónimos de la regulación en menos de una cascada de la fosforilación. La observación de que los mutantes de células T que carecen de CD45 no poseen capacidad de transducción de señales fue juzgada a primera vista como extraña, porque CD45 tiene actividad de fosfatasa y por lo tanto se creyó que regulaba en menos la señalización. Sin embargo, la Lck cinasa en las células deficientes en CD45 es fosforilada en la tirosina-505, que es un sitio regulador negativo para la actividad de cinasa; por lo tanto, la desfosforilación por el CD45 activa la enzima Lck y se resuelve la paradoja.

LAS CÉLULAS B RESPONDEN A TRES TIPOS DIFERENTES DE ANTÍGENOS

1 Antígenos timoindependientes de tipo 1

Ciertos antígenos, como los lipopolisacáridos bacterianos, en una concentración suficientemente alta, tienen la capacidad de activar en forma policlonal una proporción sustancial del pool de células B, es decir, sin referencia a la especificidad de antígeno de las regiones hipervariables del receptor de superficie. Esto se produce mediante la unión a una molécula de superficie que pasa por alto la primera parte de la vía bioquímica mediada por el receptor específico para el antígeno. En concentraciones que son demasiado bajas como para producir activación policlonal a través de la unión sin ayuda a estas moléculas de puenteo mitogénico, la población de células B con receptores específicos de Ig para estos antígenos los enfocan selectiva y pasivamente sobre su superficie, donde la alta concentración local resultante bastará para impulsar el proceso de activación (fig. 9-10a).

2 Antígenos timoindependientes de tipo 2

Ciertos antígenos lineales, que no son degradados con facilidad en el organismo y que tienen un determinante muy repetido y apropiadamente espaciado –por ejemplo, polisacárido de *Pneumococcus*, ficoll, polímeros de D-aminoácidos y polivinilpirrolidona– también son timoindependientes en su capacidad para estimular las células B en forma directa, sin necesidad de que participen las células T. Persisten durante períodos prolongados sobre la superficie de macrófagos especializados localizados en el seno subcapsular de los ganglios linfáticos y la zona marginal esplénica, y pueden unirse a células B específicas para el antígeno con gran avidez, a través de su fijación multivalente a los receptores complementarios de Ig con los que forman enlaces cruzados (fig. 9-10b).

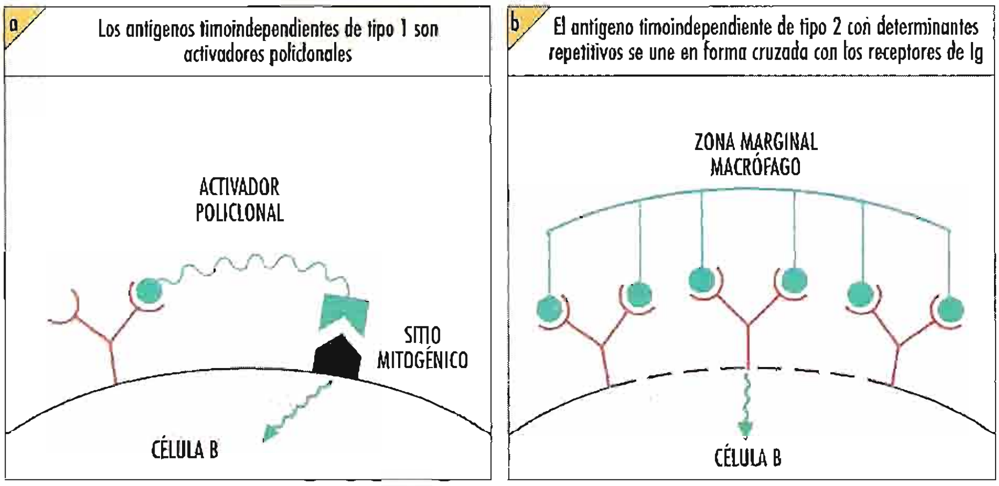
En general los antígenos timoindependientes dan origen a respuestas de IgM en las que predominan los de baja afinidad, algo de IgG3 en el ratón y relativamente poca memoria o sin ella. Las células B neonatales no responden bien a los antígenos de tipo 2 y esto tiene importantes consecuencias para la eficacia de las vacunas con hidratos de carbono en los niños pequeños.

3 Antígenos timodependientes

La necesidad de colaboración con las células T helper

Muchos antígenos son timodependientes, ya que provocan poca o ninguna respuesta de anticuerpos en los animales timectomizados al nacer, que tienen pocas células T (hito 9-1). Estos antígenos no pueden satisfacer los requerimientos moleculares para la estimulación directa; pueden ser univalentes con respecto a la especificidad de cada determinante,

Fig. 9-10. Reconocimiento por las células B de los antígenos timoindependientes a) de tipo 1 y b) de tipo 2. El complejo envía una señal sostenida a la célula B debida a la vida media prolongada de este tipo de molécula. ⇝, señal de activación; —<, receptor de Ig de superficie; – – –, enlace cruzado de los receptores.


a
Los antígenos timoindependientes de tipo 1 son activadores policlonales
ACTIVADOR POLICLONAL
SITIO MITOGÉNICO
CÉLULA B
b
El antígeno timoindependiente de tipo 2 con determinantes repetitivos se une en forma cruzada con los receptores de Ig
ZONA MARGINAL MACRÓFAGO
CÉLULA B

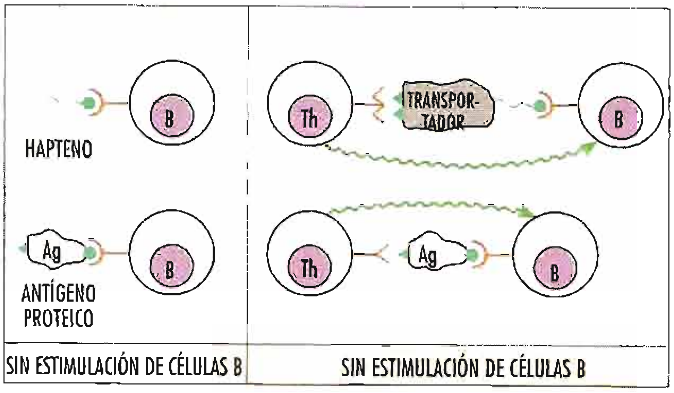

HAPTENO
B
Th
TRANSPORTADOR
B
Ag
B
ANTÍGENO PROTEICO
Th
Ag
B
SIN ESTIMULACIÓN DE CÉLULAS B
SIN ESTIMULACIÓN DE CÉLULAS B

Fig. 9-11. Las células T helper cooperan, a través de determinantes de proteínas transportadoras, para ayudar a las células B a responder contra el hapteno, o determinantes equivalentes sobre los antígenos al proporcionar señales accesorias. (Para simplificar hemos ignorado el componente del CMH y el procesamiento del epítopo en el reconocimiento de las células T, pero no lo olvidaremos.)

ser degradados con facilidad por las células fagocíticas y carecer de mitogenicidad. Si se unen a los receptores de las células B, se asientan sobre la superficie, al igual que un hapteno, y no hacen nada para activar la célula B (fig. 9-11). Repasemos la definición de un hapteno; una molécula pequeña similar al dinitrofenilo (DNP) que se une a anticuerpos preformados (p. ej., el receptor de superficie de una célula B específica) pero que no estimula la producción de anticuerpos (es decir, no estimula la célula B). Recuerde también que los haptenos se tornan inmunógenos cuando se acoplan a una proteína transportadora apropiada (véase pág. 89). Sobre la base del conocimiento de que tanto las células B como las células T son necesarias para las respuestas de anticuerpos contra antígenos timodependientes (hito 9-1), ahora sabemos que la función del transportador es estimular a las células T helper que cooperan con las células B para permitirles que respondan al hapteno proporcionando señales accesorias (fig. 9-11). También debe ser evidente, a partir de la figura 9-11, que, mientras un determinante sobre un antígeno proteico típico se está comportando como un hapteno en la unión con la célula B, los otros determinantes cumplen una función transportadora al reclutar células T helper.

Procesamiento del antígeno por las células B

La necesidad del **ligamiento físico de hapteno y transportador** sugiere con firmeza que las células T helper deben reconocer los determinantes del transportador sobre la célula B que responde, para proporcionar las señales estimuladoras accesorias relevantes. Sin embargo, dado que las células T sólo reconocen antígeno ligado a la membrana procesado y asociado con las moléculas del CMH, las células T helper no pueden reconocer el antígeno nativo ligado simplemente a los receptores de Ig de la célula B tan inocentemente, como se muestra en la figura 9-11. Sin embargo, no todo está perdido, dado que **las células B programados pueden presentar el antígeno a las células T helper**; de hecho funcionan con concentraciones de antígeno mucho más bajas que las células presentadoras convencionales, porque pueden focalizar el antígeno a través de sus receptores de superficie. El antígeno ligado a la IgG de superficie es internalizado en los endosomas, que luego se fusionan con vesículas que contienen mo-

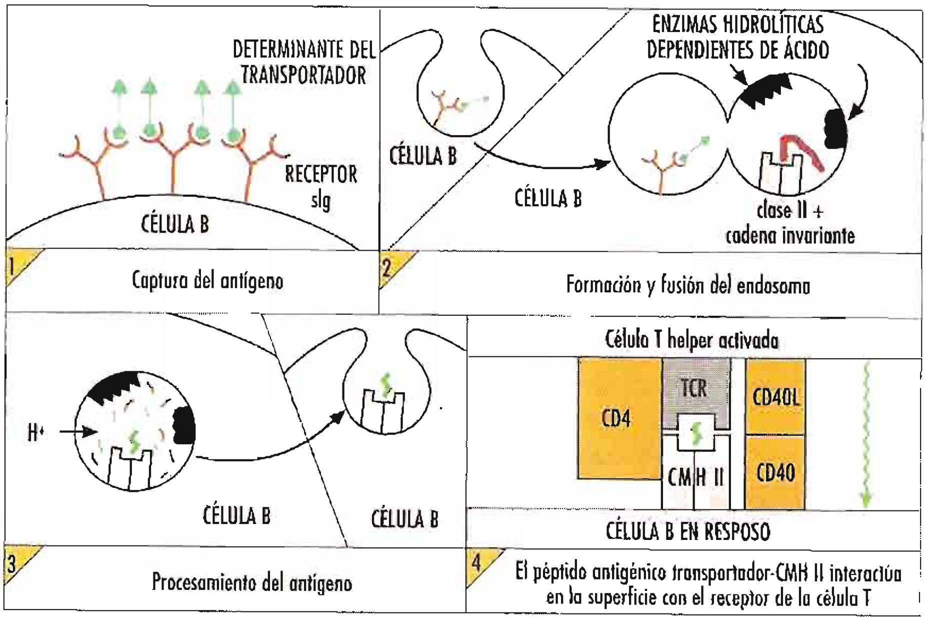

DETERMINANTE DEL TRANSPORTADOR
RECEPTOR sIg
CÉLULA B
1
Captura del antígeno
ENZIMAS HIDROLÍTICAS DEPENDIENTES DE ÁCIDO
CÉLULA B
CÉLULA B
clase II + cadena invariante
2
Formación y fusión del endosoma
H+
CÉLULA B
CÉLULA B
3
Procesamiento del antígeno
Célula T helper activada
CD4
TCR
CD40L
CMH II
CD40
CÉLULA B EN RESPOSO
4
El péptido antigénico transportador-CMH II interactúa en la superficie con el receptor de la célula T

Fig. 9-12. Manejo de un antígeno timo-dependiente por la célula B. El antígeno capturado por el receptor Ig de superficie es internalizado dentro de un endosoma, procesado y expresado en la superficie con CMH clase II (véase figura 5-18). Se necesitan señales coestimuladoras a través de la interacción CD40-CD40L (CD154) para la activación de la célula en reposo por parte de la célula T helper. Es probable la formación de enlaces cruzados entre la sIg y el antígeno en la superficie de una célula presentadora de antígenos es probable durante las respuestas secundarias dentro de los centros germinativos, cuando los complejos que contienen complemento sobre las células dendríticas foliculares interactúan con los linfoblastos B. ⟶, señal de activación; Y Y Y, enlace cruzado de receptores.

Hito 9-1. Colaboración de células T y B para la producción de anticuerpos

En la década de 1960, a medida que se revelaban lentamente los misterios del timo, nuestros colegas de entonces haciendo retroceder las fronteras del conocimiento, descubrieron que la timectomía neonatal en el ratón no sólo abolía el rechazo celular de los injertos cutáneos, sino también la respuesta de anticuerpos a algunos de los antígenos, pero no a todos (fig. H9-1-1). Las investigaciones ulteriores demostraron que se necesitaban tanto los timocitos como las células de médula ósea para las respuestas óptimas de anticuerpos a esos **antígenos timodependientes** (fig. H9-1-2). Al llevar a cabo estas transferencias con células de animales que tenían un marcador cromosómico reconocible (T6), se hizo evidente que las células formadoras de anticuerpos derivaban del inóculo de médula ósea, de ahí la nomenclatura *"T"* para los linfocitos derivados del *T*imo y *"B"* para los precursores de las células formadoras de anticuerpos que se originaban en la médula ósea (*"B*one marrow"). Esta conveniente nomenclatura se ha fijado aun cuando la médula ósea contiene precusores embrionarios de las células T, dado que las células T y B inmunocompetentes se diferencian en el timo y la médula ósea respectivamente (véase capítulo 12).

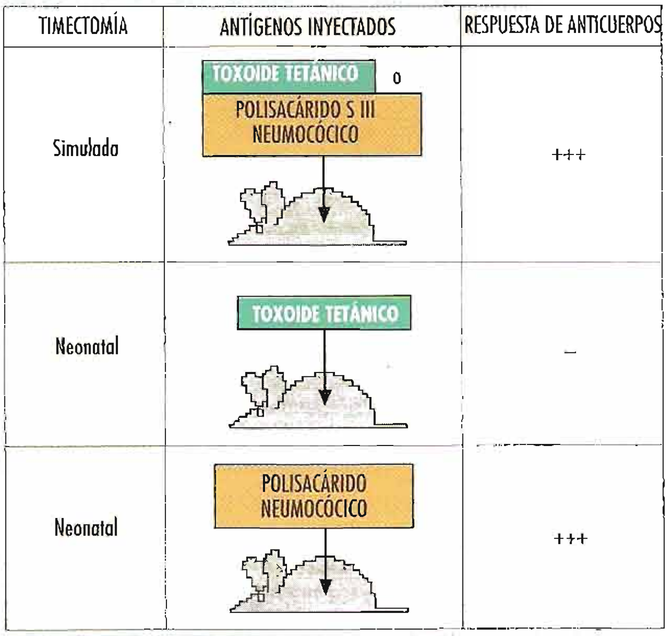

TIMECTOMÍA
ANTÍGENOS INYECTADOS
RESPUESTA DE ANTICUERPOS
Simulada
TOXOIDE TETÁNICO
0
POLISACÁRIDO S III NEUMOCÓCICO
+++
Neonatal
TOXOIDE TETÁNICO
–
Neonatal
POLISACÁRIDO NEUMOCÓCICO
+++

Fig. H9-1-1. La respuesta de anticuerpos contra algunos antígenos es timodependiente y, contra otros, timoindependiente. La respuesta al toxoide tetánico en los animales con timectomía neonatal podría ser restablecida mediante la inyección de timocitos.

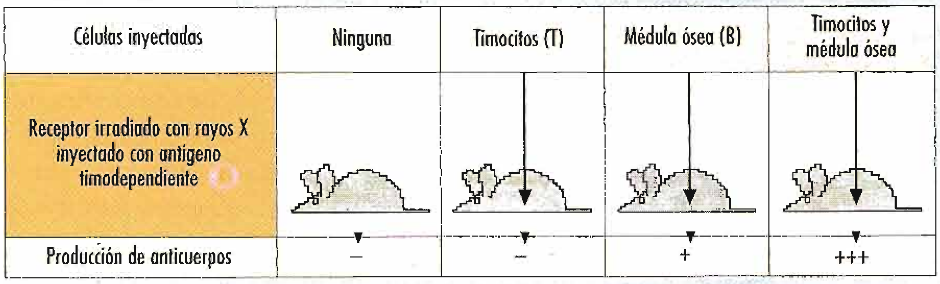

Células inyectadas
Ninguna
Timocitos (T)
Médula ósea (B)
Timocitos y médula ósea
Receptor irradiado con rayos X inyectado con antígeno timodependiente
Producción de anticuerpos
–
–
+
+++

Fig. M9-1-2. La respuesta de anticuerpos contra un antígeno timodependiente requiere dos poblaciones celulares diferentes. Se inyectaron diferentes poblaciones de células de un ratón normal histocompatible con el receptor (es decir, el mismo haplotipo H-2) en receptores que habían recibido irradiación con rayos X para destruir sus propias respuestas de linfocitos. Luego fueron estimulados con un antígeno timodependiente como eritrocitos de carnero (es decir, un antígeno que no da una respuesta en los ratones con timectomía neonatal; fig. H9-1-1) y se examinó la producción de anticuerpos después de 2 semanas. La pequeña cantidad de anticuerpos sintetizados por los animales que recibieron médula ósea sola se debe a la presencia de precursores timocíticos en el inóculo celular, que se diferencian en el timo intacto del receptor.

léculas clase II del CMH con su cadena invariante. Entonces, el procesamiento del antígeno proteico se lleva a cabo como se describe en el capítulo 5 (véase la figura 5-18) y el péptido antigénico resultante es reciclado hacia la superficie, en asociación con las moléculas clase II, donde está disponible para ser reconocida por las células T helper específicas (figs. 9-12 y 9-13). Por lo tanto, se pone en evidencia la necesidad de la unión física entre el hapteno y el transportador; el hapteno conduce al transportador a ser procesado dentro de la célula que está programada para elaborar anticuerpos antihapteno y, lue-

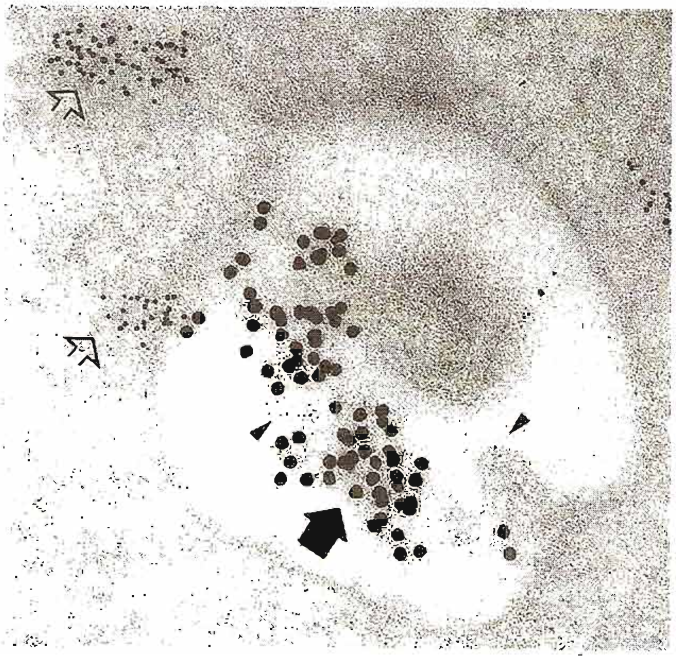


Fig. 9-13. Demostración de que los receptores Ig de superficie de las células B entran en las vesículas citoplasmáticas preparadas para el procesamiento de los antígenos. La IgG de superficie fue ligada en forma cruzada con Ig de cabra antihumana e IgG de conejo anticabra, conjugadas con partículas de oro de 15 nm (flecha oscura y grande). Después de 2 minutos se prepararon cortes celulares y se tiñeron con cadena invariante anti-HLA-DR (oro 2 nm; puntas de flecha) y un anticuerpo contra una proteasa catepsina (oro 5 nm; puntas de flecha). Así, la IgG internalizada se expone a la proteólisis en una vesícula que contiene moléculas clase II. La presencia de cadena invariante muestra que las moléculas clase II derivan del retículo endoplasmático y del Golgi, no de la superficie celular. Obsérvese el uso inteligente de las partículas de oro de diferentes tamaños para distinguir los anticuerpos utilizados para localizar distintas proteínas intravesiculares, etc. (Fotografía reproducida con autorización de los autores y los editores de Guagliardi LE, et al. (1990) *Nature* 343, 133. Copyright © 1990 Macmillan Magazines Ltd.)

go del estímulo mediante la célula T helper que reconoce el transportador procesado, lleva a cabo su programa y por último produce anticuerpos que reaccionan con el hapteno (¡¿no hay límite para la voluntad de la naturaleza?!).

LA NATURALEZA DE LA ACTIVACIÓN DE LAS CÉLULAS B

Las células B son estimuladas por enlaces cruzados de la inmunoglobulina de superficie

El enlace cruzado del receptor de células B (BCR), por ejemplo por anti-IgM conjugado con partículas de sepharose insoluble o por antígenos timoindependientes de tipo 2 poliméricos con determinantes repetitivos, induce los acontecimientos de activación tempranos. La coligación del panmarcador de células B CD19 con Ig de superficie (sIg) reduce 100 veces el umbral para la activación celular. In vivo esto podría producirse por la formación de puentes entre la Ig y los receptores de complemento CR2 sobre la superficie de las células B, mediante complejos antígeno-C3d unidos a la superficie de las CPA, dado que las moléculas CD19 y CR2 (CD21) establecen una asociación mutua.

Dentro del minuto de liga la Ig de superficie, las cinasas de la familia Src fosforilan con rapidez la Syk cinasa, la tirosinacinasa de Bruton (Btk) y los ITAM sobre las cadenas Ig-α e Ig-β del receptor sIg. Syk se une a los ITAM Ig-α e Ig-β, en forma análoga a la unión de ZAP-70 a los ITAM sobre las cadenas ζ asociadas con TCR. El CD19 también es fosforilado, tal vez por Lyn, lo que crea así sitios de unión para los dominios SH2 de la fosfatidilinositol 3-cinasa y el factor de intercambio de nucléotidos de guanina Vav. Si bien las células B carecen de los adaptadores LAT y SLP-76 de las células T (véase fig. 9-7), poseen un homólogo de SLP-76 denominado de diversas formas, como SLP-65, BLNK (proteína ligadora de células B) o BASH (adaptador de células B que contiene el dominio SH2). SLP-65 es fosforilado por Syk y forma un complejo multimérico que incorpora Vav, Btk y fosfolipasa Cγ2 (PLCγ2), y esta última comienza la vía del PIP_2. Igual que en la célula T, esto genera trifosfato de inositol y diacilglicerol, con elevación consiguiente del calcio intracelular y activación de la proteincinasa C (véase fig. 9-7). La proteína de unión al intensificador NFκB es liberada de su inhibidor IκB con la activación de la proteincinasa C y se traslada hacia el núcleo, donde su aparición se asocia con la transcripción del gen de la cadena liviana κ. El adaptador SLP-65 también enlaza la señalización de las células B en la activación de las vías de ERK y JNK.

El modelo de enlace cruzado del BCR parece apropiado para una comprensión de la estimulación por los antígenos timoindependiente de tipo 2, dado que sus determinantes repetitivos aseguran una unión fuerte a múltiples receptores de Ig sobre la superficie de la célula B con la formación de enlaces cruzados para formar agregados que persisten debido a la vida media prolongada del antígeno y mantienen el elevado nivel de calcio intracelular necesario para la activación. Por otra parte, es probable que los antígenos timoindependientes tipo 1, al igual que los activadores policlonales de células T, pasen por alto el receptor específico y actúen en forma directa sobre las moléculas corriente abajo, como diacilglicerol y proteincinasa C, dado que Ig-α e Ig-β no son fosforiladas.

Las células T helper activan a las células B en reposo

Los antígenos timodependientes plantean un problema diferente, dado que suelen ser univalentes en relación con los receptores de las células B, es decir que cada epítopo aparece una vez sobre una proteína monomérica y, en consecuencia, no pueden establecer enlaces cruzados con la Ig de superficie. Sin embargo, hemos analizado con cierto detalle de qué modo el antígeno capturado por un receptor de células B puede ser internalizado y procesado para su presentación en superficie como un péptido que forma complejos con el CMH clase II (véase fig. 9-12). En estas condiciones puede ser reconocido por el TCR de una célula T helper específica para el transportador y, con ayuda de señales coestimuladoras que surjen de la interacción de **CD40 con su ligando CD40L** (véase fig. 9-12), se asegura la activación de las células B.

En efecto, el linfocito B está actuando como una célula presentadora de antígenos y, como mencionamos antes, es muy eficiente debido a su capacidad para concentrar el antígeno focalizándolo sobre su Ig de superficie. No obstante, aunque una célula T helper activada puede interactuar con una célula B en reposo y estimularla, una célula T *en reposo* sólo puede ser activada por una célula B que ha adquirido el coestimulador B7 y éste sólo está presente sobre las células B activadas, que no en las que están en reposo.

Es probable que los inmunocomplejos en las células dendríticas foliculares de los centros germinativos de los folículos secundarios puedan ser captados por las células B para su presentación a las células T helper, pero, además, los complejos podrían formar enlaces cruzados con las sIg de los blastos de las células B e impulsar su proliferación de una forma independiente de T. Esto aumentaría por la presencia de C3 en los complejos dado que el receptor del complemento de las células B (CR2) es comitógeno.

RESUMEN

Las células T y las células B inmunocompetentes difieren en muchos aspectos

- Los receptores específicos para el antígeno, TCR/CD3 sobre las células T y la Ig de superficie sobre las células B, proporcionan una clara distinción entre estos dos tipos celulares.
- Las células T y B difieren en sus receptores para C3d, IgG y ciertos virus.
- Existen distintos activadores policlonales de las células T (PHA, anti-CD3) y de las células B (anti-Ig, virus de Epstein-Barr).

Los linfocitos T y las células presentadoras de antígeno interactúan a través de pares de moléculas accesorias

- El acoplamiento de las células T y las CPA depende de fuertes interacciones mutuas entre pares moleculares complementarios sobre sus superficies: CMH II-CD4, CMH I-CD8, VCAM-1-VLA-4, ICAM-1-LFA-1, LFA-3-CD2, B7-CD28 (y CTLA-4).

La activación de las células T requiere dos señales

- Dos señales activan las células T, pero uno solo produce falta de respuesta (anergia).
- Una señal es proporcionada por la interacción de baja afinidad los análogos de TCR-CMH más péptido.
- La segunda señal coestimuladora está mediada a través de la ligadura de CD28 por B7.

La fosforilación de la proteína tirosina es un acontecimiento temprano en la señalización de las células T

- La señal del TCR es traducida y amplificada mediante una cascada enzimática de proteína cinasa (PTK).
- La colocalización CD4/TCR conduce a la fosforilación de secuencias ITAM sobre las cadenas ζ asociadas con CD3 mediante la LcK PTK asociada con CD4. Los ITAM fosforilados se unen a la ZAP-70 cinasa y luego la activan.

Acontecimientos corriente abajo que siguen a la señalización del TCR

- Las proteínas adaptadoras no enzimáticas forman complejos multiméricos con cinasas y factores de intercambio de nucleótidos de guanina (GEF).
- La hidrólisis del difosfato de fosfatidilinositol por las fosfolipasas Cγ1 o Cγ2 produce trifosfato de inositol (IP_3) y diacilglicerol (DAG).
- El IP_3 moviliza el calcio intracelular.
- El DAG y el aumento del calcio activan la proteincinasa C.
- El aumento del calcio junto con la calmodulina también estimulan la actividad de la calcineurina.
- La activación de Ras por el factor de intercambio de nucleótidos de guanina Sos inicia una cascada de cinasas que opera a través de Raf, la MAP cinasa cinasa MEK y la MAP cinasa ERK. El CD28 a través de la PI3 cinasa también puede influir en la MAP cinasa.
- Los factores de transcripción Fos y Jun, NFAT y NFκB son activados por MAP cinasa, calcineurina y PKC, respectivamente, y se unen a sitios reguladores en la región promotora de IL-2.
- Una pequeña cantidad de complejos CMH-péptido pueden disparar en forma seriada una cantidad mucho mayor de TCR, lo que proporciona así la señal sostenida necesaria para la activación.
- La unión inicial de las integrinas facilita la formación de una sinapsis inmunitaria, cuyo centro intercambia integrinas para que el TCR interactúe con CMH-péptido.
- B7 provee una señal negativa a través de CTLA-4 y las moléculas adaptadoras de la familia Cb1 también están involucradas en las vías de señalización negativas.
- Los dominios de fosfatasa en CD45 son necesarios para eliminar los fosfatos en los sitios inhibidores sobre las cinasas.

Las células B responden a tres tipos diferentes de antígeno

- Los antígenos timoindependientes de tipo 1 son activadores policlonales focalizados en células B específicas por receptores sIg.
- Los antígenos timoindependientes de tipo 2 son moléculas poliméricas que forman enlaces cruzados con muchos receptores sIg y, debido a sus vidas medias prolongadas, proporcionan una señal persistente para la célula B.
- Los antígenos timodependientes requieren la cooperación de las células T helper para estimular la producción de anticuerpos por las células B.
- El antígeno capturado por receptores sIg específicos es captado en la célula B, procesado y expresado sobre la superficie como un péptido en asociación con CMH clase II.
- Este complejo es reconocido por la célula T helper que activa a la célula B en reposo.
- La capacidad de las proteínas transportadoras para permitir la respuesta de anticuerpos se explica por la colaboración T-B, en la cual las células T reconocen el transportador y las células B, el hapteno.

La naturaleza de la activación de las células B

- La formación de enlaces cruzados con los receptores de Ig de superficie (p. ej., por antígenos timoindependientes de tipo 2) activa las células B.
- Las células T helper activan a las células B en reposo a través del reconocimiento por parte del TCR de complejos CMH II-péptido transportador y la coestimulación a través de interacciones CD40L-CD40 (análogo a la segunda señal B7-CD28 para la activación de las células T).

Véanse preguntas de opciones múltiples en el sitio web correspondiente (www.roitt.com).

CAPÍTULO 10

La producción de efectores

www.el12cirujano.blogspot.com

Introducción, 199
Las citocinas actúan como mensajeros intercelulares, 199
  La acción de las citocinas es transitoria y habitualmente de corto alcance, 199
  Las citocinas actúan a través de receptores de la superficie celular, 200
  Transducción de señales a través de los receptores para citocinas, 203
  Las citocinas a menudo tienen múltiples efectos, 203
  Interacciones en red, 204
Las diferentes subpoblaciones de células T pueden elaborar diferentes patrones de citocinas, 205
  El concepto Th1/Th2 bipolar, 205
  Las interacciones con células del sistema inmune innato desvían la respuesta Th1/Th2, 205
  Las células T citotóxicas pueden subdividirse también en Tc1/Tc2, 207
Las células T activadas proliferan en respuesta a las citocinas, 207
Los efectores de las células T en la inmunidad mediada por células, 208
  Las citocinas median respuestas inflamatorias crónicas, 208
  Células T killer, 211
  La inflamación debe estar regulada, 213
La proliferación y la maduración de las repuestas de las células B están mediadas por citocinas, 213
¿Qué sucede en el centro germinativo? 213
La síntesis de anticuerpos, 216
El cambio de clase de inmunoglobulina se lleva a cabo en las células B individuales, 216
  Las células B con cambio de clase están sometidas a altas tasas de mutación después de la respuesta inicial, 217
Factores que afectan la afinidad de los anticuerpos en la respuesta inmune, 219
  El efecto de la dosis de antígeno, 219
  Maduración de la afinidad, 219
Células de memoria, 220
  La población de células memoria no es simplemente una expansión de las células vírgenes correspondientes, 220
Resumen, 222
Lecturas adicionales, 224

INTRODUCCIÓN

Nos hemos referido extensamente a los primeros acontecimientos en la activación de los linfocitos, después de la ocupación del receptor de la célula T (TCR) y la provisión de una señal coestimuladora apropiada. Una serie compleja de reacciones de forforilación de tirosina y serina/treonina produce los factores que empujan a la célula al ciclo mitótico, e impulsan la proliferación clonal así como la diferenciación en efectores. La activación de las células T es regulada en más por una sucesión de genes. Dentro de la primera media hora se expresan factores de transcripción nucleares, como Fos/Jun y NFAT, que regulan la expresión de la interleucina-2 (IL-2) y el protooncogén celular c-*myc*, pero en las horas siguientes tiene lugar la síntesis de una gama de **citocinas solubles y sus receptores**. Mucho más tarde observamos moléculas como el receptor para transferrina, relacionado con la división celular, y antígenos muy tardíos, como la molécula de adhesión VLA-1.

LAS CITOCINAS ACTÚAN COMO MENSAJEROS INTERCELULARES

Al contrario de la activación inicial de las células T y las células B dependientes de T, que implica el contacto íntimo con las células presentadoras de antígeno (CPA), la proliferación y maduración posteriores de la respuesta son orquestadas por mediadores solubles, denominados en forma genérica citocinas (fig. 10-1). Con el reconocimiento de que una citosina dada puede ser producida por muchos tipos celulares diferentes, los términos como linfocina o monocina se han vuelto algo obsoletos (cuadro 10-1).

La acción de las citocinas es transitoria y habitualmente de corto alcance

Estas proteínas secretadas, de peso molecular bajo, por lo común de 15-25 kDa, median el crecimiento celular, la inflamación, la inmunidad, la diferenciación, la migración y la reparación. Dado que regulan la amplitud y la duración de las respuestas inmunoinflamatorias, deben ser producidas en for-

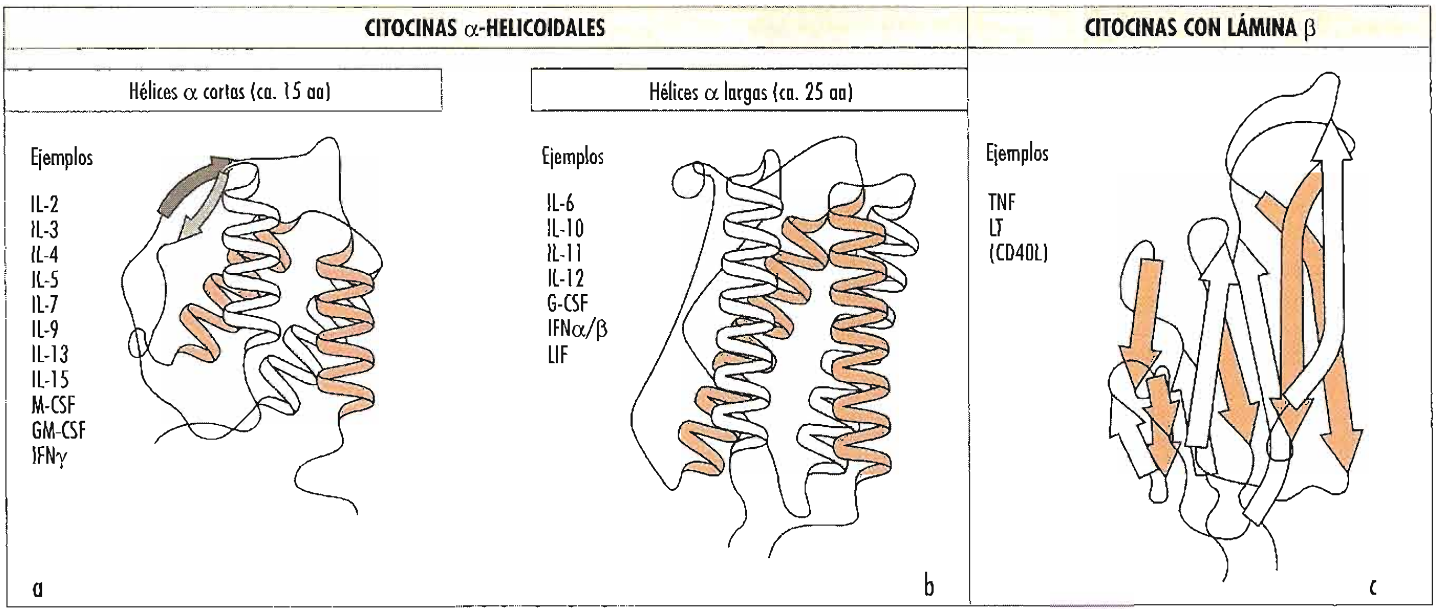


Fig. 10-1. Estructuras de las citocinas. Las citocinas pueden dividirse en algunos grupos estructurales diferentes. Se muestran aquí tres de los tipos principales de estructuras y algunos ejemplos con nombre de cada tipo: **a)** cuatro hélices α cortas (~ 15 aminoácidos), **b)** cuatro hélices α largas (~ 25 aminoácidos) y **c)** una estructura de lámina β. (Reproducido con autorización de Michal G (ed.) (1999) *Biochemical Pathways*: An Atlas of *Biochemistry and Molecular Biology*. John Wiley & Sons, New York.)

ma transitoria y estrictamente regulada por la presencia de material extraño; es relevante que las secuencias con alto contenido en las regiones no traducidas 3′ del mRNA de muchas citocinas se correlacionen en forma directa con una degradación rápida y, por lo tanto, con una vida media corta. Al contrario de las hormonas endocrinas, la mayoría de las citocinas normalmente actúa en el lugar en una forma paracrina o incluso autocrina. Así, las citocinas derivadas de los linfocitos pocas veces persisten en la circulación, pero las células no linfoideas pueden ser estimuladas a liberar citocinas por productos bacterianos, las cuales pueden detectarse en el torrente sanguíneo a menudo en perjuicio del huésped. Ciertas citocinas, como IL-1 y factor de necrosis tumoral (TNF), también existen en formas asociadas a membranas que pueden ejercer sus efectos estimuladores sin tornarse solubles.

Las citocinas actúan a través de receptores de la superficie celular

Las citocinas son muy potentes, a menudo actúan en concentraciones femtomolares (10^{-15} M), y se combinan con pequeñas cantidades de receptores de la superficie celular de alta afinidad para producir cambios en el patrón de la síntesis de RNA y proteínas. Una característica frecuente en la activación de los receptores para citocinas es la asociación inducida por el ligando de subunidades del receptor, que permite la transducción de señales a través del interjuego de sus dominios citoplasmáticos yuxtapuestos. Hay seis familias estructurales principales de receptores para citocinas (fig. 10-2).

Receptores para hematopoyetina

Constituyen la familia más grande, a veces denominada simplemente, superfamilia de receptores para citocinas. Estos receptores por lo general consisten en una o dos cadenas polipeptídicas responsables de la unión de las citocinas y una cadena compartida adicional (común o "c") involucrada en la transducción de la señal. La cadena γc (CD132) es utilizada por el receptor para IL-2 (fig. 10-2a) y los receptores para IL-4, IL-7, IL-9, IL-13 e IL-15, una cadena βc (CDw131) por los receptores para IL-3, IL-5 y factor estimulador de colonias de granulocitos-macrófagos (GM-CSF) y la cadena compartida gp130 (CD130) por los receptores para IL-6, IL-11, IL-12, oncostatina M, factor neurotrófico ciliar y factor inhibidor de leucemia.

Receptores para interferón

También están constituidos por dos cadenas polipeptídicas y, además de los receptores para IFNα,

CITOCINA	ORIGEN	FUNCIÓN EFECTORA
INTERLEUCINAS		
IL-1α, IL-1β	Monocito, Mϕ, DC, NK, B, Endo	Coestimula la activación de células T al aumentar la producción de citocinas, entre las que se incluyen IL-2 y su receptor; aumenta la proliferación y maduración de las células B; citotoxicidad por NK; induce IL-1, IL-6, IL-8, TNF, GM-CSF y PGE_2 por los Mϕ, efecto proinflamatorio al inducir quimiocinas e ICAM-1 y VCAM-1 en el endotelio; induce fiebre, proteínas de fase aguda, resorción ósea por los osteoclastos
IL-2	Th1	Induce la proliferación de células T y B activadas; aumenta la citotoxicidad por NK, así como la destrucción de células tumorales y bacterias por monocitos y Mϕ
IL-3	T, NK, MC	Crecimiento y diferenciación de precursores hematopoyéticos; crecimiento de MC
IL-4	Th2, Tc2, NK, T NK, T γδ, MC	Induce las células Th2; estimula la proliferación de B, T y MC activados; regula en más el CMH clase II sobre B y Mϕ; aumenta la fagocitosis por los Mϕ; induce cambio a IgG1 e IgE
IL-5	Th2, MC	Induce proliferación de eosinófilos y B activadas; induce cambio a IgA
IL-6	Th2, Mono, Mϕ, DC, estroma de la médula ósea	Diferenciación de células madre mieloides y de B en células plasmáticas; induce proteínas de fase aguda; aumenta la proliferación de T
IL-7	Estroma de médula ósea y timo	Induce la diferenciación de las células madre linfoides en T y B progenitoras; activa las células T maduras
IL-8	Mono, Mϕ, Endo	Media la quimiotaxis y la activación de los neutrófilos
IL-9	Th	Induce proliferación de timocitos; aumenta el crecimiento de MC; sinergiza con IL-4 en el cambio a IgG1 e IgE
IL-10	Th (Th2 en el ratón), Tc, célula B, mono, Mϕ	Inhibe la secreción de IFNγ en el ratón y de IL-2 en las células Th1 del ser humano; regula en menos el CMH clase II y la producción de citocinas (incluida IL-12) por monocitos, Mϕ y DC, inhibiendo así la diferenciación de Th1; inhibe la proliferación de T; aumenta la diferenciación de B
IL-11	Estroma de médula ósea	Promueve la diferenciación de pro-B y megacariocitos; induce proteínas de fase aguda
IL-12	Mono, Mϕ, DC, B	Citocina crítica para la diferenciación de Th1; induce proliferación y producción de IFNγ por Th1, $CD8^+$ y γδ T y NK; aumenta la citotoxicidad de NK y T $CD8^+$
IL-13	Th2, MC	Inhibe la activación y la secreción de citocinas por los Mϕ; coactiva la proliferación de B; regula en más CMH clase II y CD23 en B y Mono; induce cambio a IgG1 e IgE; induce VCAM-1 sobre Endo
IL-15	T, NK, Mono, Mϕ, DC, B	Induce proliferación de T, NK y B activadas, y la producción de citocinas y la citotoxicidad en NK y T $CD8^+$; quimiotáctica para las T; estimula el crecimiento del epitelio intestinal
IL-16	Th, Tc	Quimioatráctica para T CD4, Mono y eosinófilos; induce CMH clase II
IL-17	T	Proinflamatoria; estimula la producción de citocinas que incluyen TNF, IL-1β, IL-6, IL-8, G-CSF
IL-18	Mϕ, DC	Induce producción de IFNγ por T; aumenta la citotoxicidad de NK
IL-19	Mono	Modulación de la actividad de Th1
IL-20	¿Queratinocitos?	¿Regulación de las respuestas inflamatorias en la piel?
IL-21	Th	Regulación de hematopoyesis; diferenciación de NK; activación de B; coestimulación de T
IL-22	T	Inhibe la producción de IL-4 por Th2
IL-23	DC	Induce proliferación y producción de IFNγ por Th1; induce proliferación de células de memoria
FACTORES ESTIMULADORES DE COLONIAS		
GM-CSF	Th, Mϕ, Fibro, MC, Endo	Estimula el crecimiento de progenitores de Mono, neutrófilos, eosinófilos y basófilos; activa Mϕ
G-CSF	Fibro, Endo	Estimula el crecimiento de progenitores de neutrófilos
M-CSF	Fibro, Endotelio, Epi	Estimula el crecimiento de progenitores de monocitos
SLF	Estroma de médula ósea	Estimula la división de las células madre (ligando c-*kit*)
FACTORES DE NECROSIS TUMORAL		
TNF (TNFα)	Th, Mono, Mϕ, DC, Masto, NK, B	Citotoxicidad tumoral; caquexia (pérdida de peso); induce secreción de citocinas; induce la E-selectina sobre el endotelio; activa Mϕ; antiviral
Linfotoxina (TNFβ)	Th1, Tc	Citotoxicidad tumoral; aumenta la fagocitosis por neutrófilos y Mϕ; involucrada en desarrollo de órganos linfoides; antiviral
INTERFERONES		
IFNα	Leucocitos	Inhibe la replicación viral; aumenta CMH clase I
IFNβ	Fibroblastos	Inhibe la replicación viral; aumenta CMH clase I
IFNγ	Th1, Tc1, NK	Inhibe la replicación viral; aumenta CMH clases I y II; activa Mϕ; induce cambio a IgG2a; antagoniza varias acciones de IL-4; inhibe la proliferación de Th2
OTRAS		
TGFβ	Th3, B, Mϕ, Masto	Proinflamatoria, por ejemplo quimiotaxis de Mono y Mϕ, pero también antiinflamatoria, p. ej., inhibición de proliferación de linfocitos; induce cambio a IgA; promueve la reparación tisular
LIF	Epi tímico, estroma de médula ósea	Induce proteínas de fase aguda
Eta-1	Célula T	Estimula la producción de IL-12 e inhibe la producción de IL-10 por los Mϕ
Oncostatina M	Célula T, Mϕ	Induce proteínas de fase aguda

B, células B; DC, célula dendrítica; Endo, endotelio; EPI, epitelio; GM-CSF, factor estimulador de colonias de granulocitos-macrófagos; IL, interleucina; LIF, factor inhibidor de leucemia; Mϕ, macrófago; MC, mastocito, Mono, monocito; NK, natural killer; SLF, factor de locus de eslabón; TGFβ, factor de crecimiento transformador-β. Observese que no existe una IL-14. Esta designación se dio a una actividad que, después de una investigación más profunda, no pudo asignarse sin ambigüedad a una citocina aislada. IL-8 es miembro de la familia de quimiocinas. Estas citocinas se enumeran por separado en el cuadro 10-3.

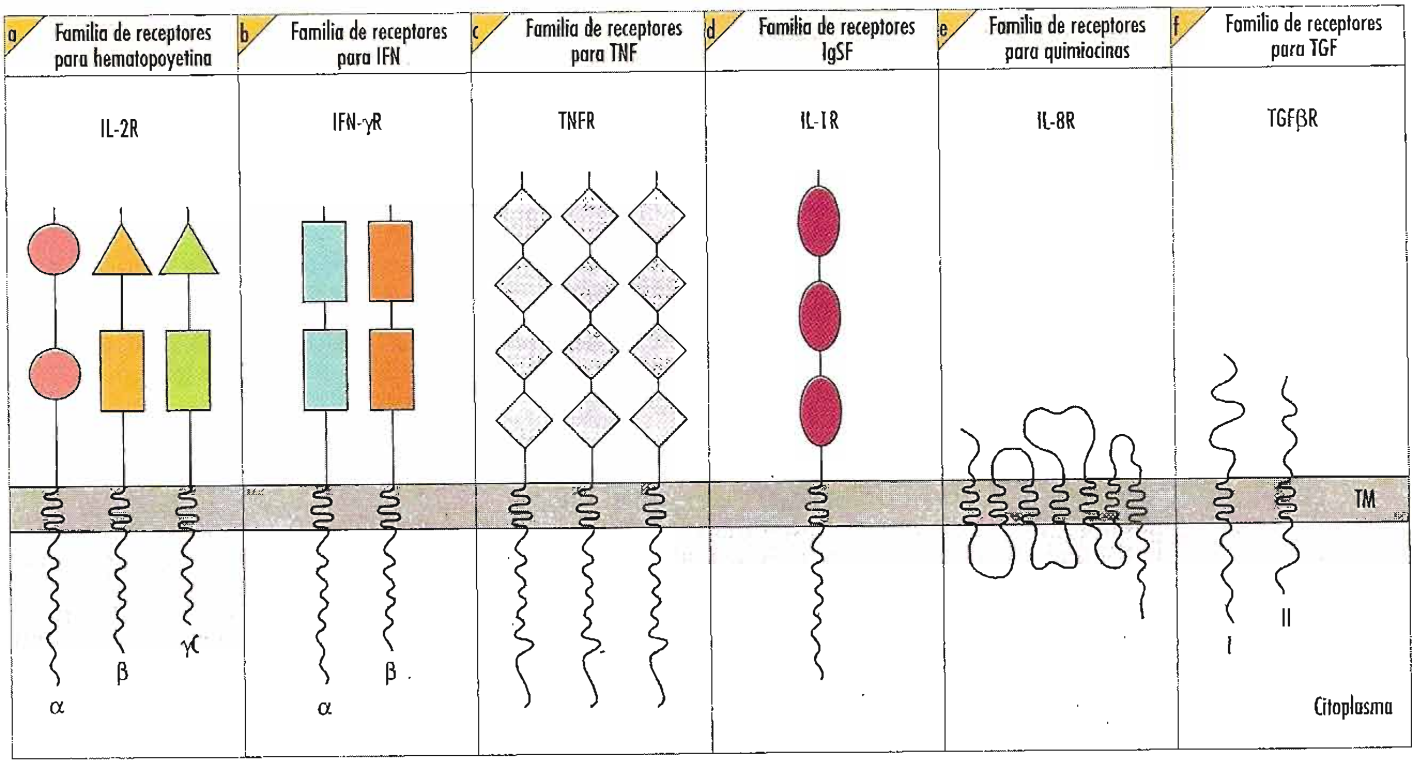

a Familia de receptores para hematopoyetina
b Familia de receptores para IFN
c Familia de receptores para TNF
d Familia de receptores IgSF
e Familia de receptores para quimiocinas
f Familia de receptores para TGF
IL-2R
IFN-γR
TNFR
IL-1R
IL-8R
TGFβR
TM
α
β
γ
α
β
I
II
Citoplasma

Fig. 10-2. Familias de receptores de citocinas. Se muestra un ejemplo para cada familia. a) Los **receptores para hematopoyetina** operan a través de una subunidad común (γc, βc o gp130, dependiendo de la subfamilia) que traduce la señal al interior de la célula. En esencia, la unión de la citocina a su receptor debe iniciar el proceso de señalización al mediar la formación de heterodímeros u homodímeros que involucran la subunidad común. En algunos casos la citocina se activa cuando se une al receptor, ya sea en la forma soluble o ligada a la membrana (p. ej., IL-6). El receptor para IL-2 se une a su ligando de un modo interesante. La cadena α (CD25, que reacciona con el Tac monoclonal) del receptor posee dos dominios estructurales proteicos de control del complemento y se une a IL-2 con baja afinidad; la cadena β (CD122) tiene un dominio estructural tipo III de fibronectina proximal de membrana y un dominio estructural de receptor de citocina distal de membrana, y se asocia con la cadena γ común (CD132) que tiene una organización estructural similar. La cadena β se une a la IL-2 con afinidad intermedia. La IL-2 se une a la cadena α y se disocia de ella muy rápido, pero los mismos procesos que involucran a la cadena β se producen con una lentitud de dos o tres órdenes de magnitud menor. Cuando las cadenas α, β y γ forman un único receptor, la cadena α se une a IL-2 con rapidez y facilita su unión a un sitio separado sobre la cadena β de la cual sólo puede disociarse en forma lenta. Dado que la afinidad final (K_d) se basa en el cociente de las constantes de velocidad de disociación y asociación, entonces $K_d = 10^{-4}$ $seg^{-1}/10^{7}$ M^{-1} $seg^{-1} = 10^{-11}$ M, la cual es una afinidad muy alta. La cadena γ no fija por sí sola IL-2, pero contribuye a la transducción de señales. **b)** La familia de **receptores para interferón** consiste en moléculas heterodiméricas, cada una de las cuales tiene dos dominios tipo III de fibronectina. **c)** Los receptores para **TNF** y moléculas afines son un único polipéptido con cuatro dominios TNFR. El receptor se trimeriza con su unión al ligando y, en común con algunos otros receptores, también se encuentra en una forma soluble que, cuando es liberada de una célula luego de la activación, puede actuar como un antagonista. **d)** Otro grupo de receptores contiene cantidades variadas de **dominios de la superfamilia Ig**, mientras que **e)** los **receptores para quimiocinas** son miembros de la superfamilia de receptores acoplados a la proteína G y tienen siete dominios transmembrana hidrófobos. **f)** La familia final ilustrada son los **receptores para TGF** que requieren la asociación entre dos moléculas, denominadas TGFR tipo I y TGFR tipo II, para que se produzca la señalización.

IFNβ e IFNγ (fig. 10-2b), esta familia incluye el receptor para IL-10.

Receptores para TNF

Los polipéptidos receptores tienen alto contenido en cisteína y se trimerizan luego de la unión con las citocinas. Entre ellos se encuentran el receptor para el factor de necrosis tumoral (TNF) (fig. 10-2c), los receptores para linfotoxina (LT) y factor de crecimiento nervioso (NGF), y las moléculas asociadas a la superficie celular CD40 y CD95 (Fas).

Receptores para las citocinas IgSF

Los miembros de la superfamilia de inmunoglobulinas son utilizados ampliamente en muchos aspectos de la biología celular (véase pág. 276). Entre ellos se incluyen el receptor para IL-1 (fig. 10-2d) y los receptores para el factor estimulador de colonias de macrófagos (M.CSF) y factor de células madre (SCF / c-kit).

Receptores para quimiocinas

Como veremos en breve, comprenden una familia de unos 20 receptores diferentes de siete segmentos transmembrana acoplados a la proteína G (fig. 10-2e).

Receptores para TGF

Los receptores para los factores de crecimiento en transformación, como el receptor TGFβ (fig. 10-2f), poseen porciones citoplasmáticas con actividad de serina / treonina cinasa.

Transducción de señales a través de los receptores para citocinas

La homodimerización o heterodimerización de las subunidades del receptor para citocinas inducida por el ligando es un tema común para la señalización por citocinas. Las dos vías principales utilizadas son las vías Janus cinasa (JAK)-STAT y Ras-MAP cinasa. Los miembros de la superfamilia de receptores para citocinas (receptores para hematopoyetina) carecen de dominios catalíticos y, por lo tanto, se asocian con JAK, entre los que se incluyen JAK1, JAK2, JAK3 y Tyk2. Después de la dimerización del receptor inducida por la citocina, las JAK se fosforilan en forma recíproca y así se activan entre ellas. Una vez activadas, pueden fosforilar los dominios citoplasmáticos de los receptores, para crear sitios de unión para las proteínas de señalización que contienen SH2. Éstos son uno o más del grupo de factores de transcripción denominados **STAT** (transductores de señales y activadores de transcripción), que también son fosforilados por las trabajadoras compulsivas JAK, acontecimiento que hace que los STAT se disocien del receptor y se dimericen. Entonces, los STAT dimerizados se traslocan al núcleo donde desempeñan un papel importante al empujar la célula a través del ciclo mitótico (fig. 10-3). Las JAK también pueden actuar mediante las cinasas de la familia src para generar otros factores de transcripción por la ruta Ras-MAP cinasa (fig. 10-3). Algunas citocinas también activan la fosfatidilinositiol 3-cinasa (PI3K) y la fosfolipasa C (PLCγ).

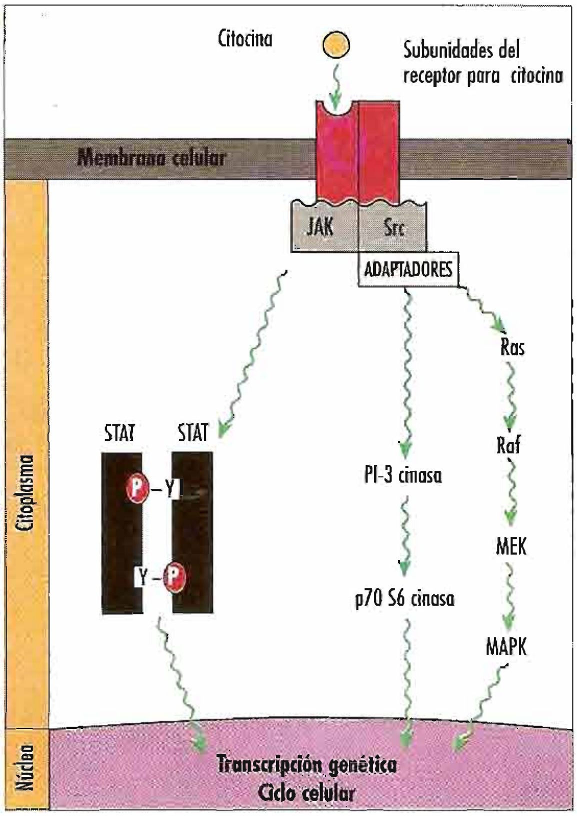


Fig. 10-3. Vías para la transcripción genética mediadas por receptores para citocinas. La oligomerización de los receptores, inducida por las citocinas, activa las JAK cinasas asociadas. Éstas fosforilan los factores de transcripción de unión al DNA STAT, que se dimerizan y traslocan al núcleo. Los receptores de citocinas también pueden activar las cinasas de la familia scr, que a través de proteínas adaptadoras como Shc, Grb2 y SHP-2 podrían generar factores de transcripción a través de las dos vías que se muestran. MAPK, proteincinasas activadas por mitógeno (véase la figura 9-7); MEK, activador de cinasa de MAPK; PI-3 cinasa, fosfatilinositol 3-cinasa.

La regulación en menos de las señales mediadas por receptores para citocinas abarca miembros de las familias SOC (supresor de la señalización de citocinas) y CIS (que contiene el domino de homología src 2 [SH2] inducible por citocinas). Aunque todavía se está evaluando su modo de acción, algunas de estas moléculas pueden bloquear en forma directa los motivos de fosforilación sobre el receptor o, quizá, actuando como basureros de las proteínas fosforiladas tirosina dirigiéndolas para la degradación por ubiquitina / proteasoma (véase pág. 104).

Las citocinas a menudo tienen múltiples efectos

En general, las citocinas son *pleiotrópicas*, o sea que ejercen múltiples efectos sobre distintos tipos celulares (cuadro 10-1); además existe entre ellas una superposición considerables y *redundancia* con respecto a sus funciones individuales, lo que es posible explicar en parte porque comparten componentes de receptores y por la utilización de factores de transcripción comunes. Por ejemplo, muchas de las actividades biológicas de la IL-4 se superponen con las de la IL-13. Sin embargo, debe destacarse que casi todas las citocinas tienen al menos algunas propiedades singulares.

Sus papeles en la generación de efectores de las células T y B, y en la regulación de reacciones inflamatorias crónicas (fig. 10-4a y b), se analizarán en forma extensa más adelante en este capítulo. Debemos destacar aquí el importante papel de las citocinas en el control de la hematopoyesis (fig. 10-4c). La diferenciación de las células madre, para convertirse en los elementos formes de la sangre dentro del ambiente de la médula ósea, es cuidadosamente nutrida a través de la producción de citocinas por las células de la estroma. Éstas incluyen GM-CSF, G-CSF (factor estimulador de colonias de granulocitos), M-CSF, IL-6 e IL-7 y LIF (véase el cuadro 10-1), y muchas de ellas también derivan de las células T y de los macrófagos. Por lo tanto, no es sorprendente que durante un período de inflamación crónica las citocinas que se producen recluten nuevos precursores en la vía de diferenciación hematopoyética; un ejercicio útil en esas circunstancias. Una de las citocinas, IL-3, debe destacarse por su capacidad excepcional para apoyar las primeras células de esta vía, sobre todo en sinergismo con IL-6 y G-CSF.

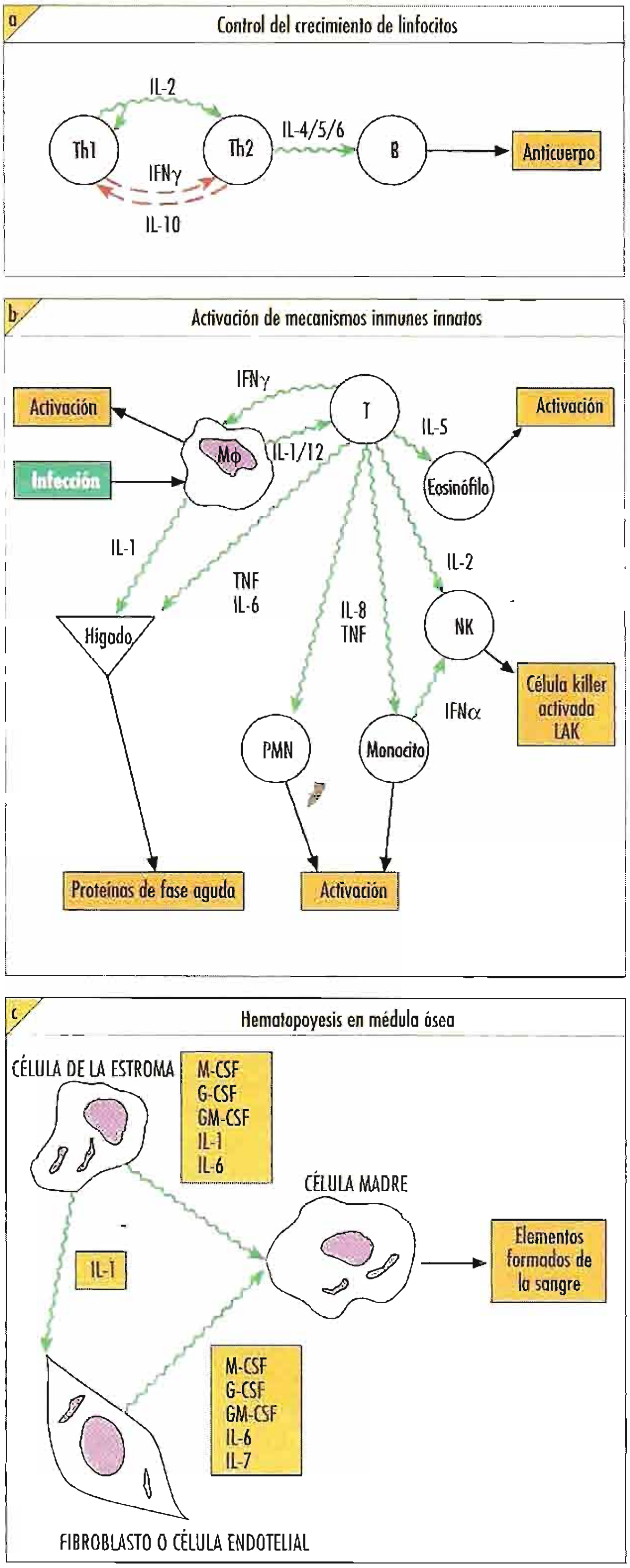

a
Control del crecimiento de linfocitos
IL-2
Th1
Th2
IL-4/5/6
B
Anticuerpo
IFNγ
IL-10
b
Activación de mecanismos inmunes innatos
IFNγ
T
Activación
Activación
Mφ
IL-1/12
IL-5
Infección
Eosinófilo
IL-1
IL-2
TNF
IL-6
IL-8
TNF
NK
Hígado
Célula killer activada LAK
IFNα
PMN
Monocito
Proteínas de fase aguda
Activación
c
Hematopoyesis en médula ósea
CÉLULA DE LA ESTROMA
M-CSF
G-CSF
GM-CSF
IL-1
IL-6
CÉLULA MADRE
IL-1
Elementos formados de la sangre
M-CSF
G-CSF
GM-CSF
IL-6
IL-7
FIBROBLASTO O CÉLULA ENDOTELIAL

Fig. 10-4. Acción de las citocinas. Una guía general, pero no completamente abarcativa, para indicar el alcance de las interacciones de las citocinas (p. ej., por razones de simplificación hemos omitido los efectos inhibidores de IL-10 sobre los monocitos y la activación de las células NL por IL-12). LAK, célula killer activada por linfocinas; NK, célula natural killer; PMN, neutrófilo polimorfonuclear; Mφ, macrófago.

Interacciones en red

Las relaciones complejas e integradas entre las diferentes citocinas están mediadas por acontecimientos celulares. Los genes para IL-3, IL-4 e IL-5 y GM-CSF se encuentran estrechamente relacionados sobre el cromosoma 5, en una región que contiene genes para M-CSF y su receptor, y varios otros factores de crecimiento y receptores. La interacción puede darse mediante una cascada en la cual una citocina induce la producción de otra, a través de la transmodulación del receptor para otra citocina y del sinergismo o antagonismo de dos citocinas que actúan sobre la misma célula (fig. 10-5). El medio por el cual las células blanco integran e interpretan los patrones complejos de estímulos inducidos por estos factores solubles múltiples sólo se están desplegando lentamente.

LAS DIFERENTES SUBPOBLACIONES DE CÉLULAS T PUEDEN ELABORAR DIFERENTES PATRONES DE CITOCINAS

El concepto Th1/Th2 bipolar

Los clones de células T helper pueden dividirse en dos tipos principales con distintos fenotipos de secreción de citocinas (cuadro 10-2). Esto tiene sentido biológico, ya que las células Th1 que producen citocinas como IFNγ serían especialmente eficaces contra infecciones intracelulares producidas por virus y microorganismos que crecen en macrófagos, mientras que las células Th2 son muy buenas colaboradoras de las células B y parecieran estar adaptadas para la defensa contra los parásitos que son vulnerables a IgE cambiada por la IL-4, eosinofilia inducida por la IL-5 y proliferación de mastocitos estimulada por la IL-3/4. Así, los estudios sobre la infección de ratones por el protozoo patógeno *Leishmania major* demostraron que la inyección intravenosa o intraperitoneal de promastigotos destruidos conduce a la protección contra la exposición a parásitos vivos asociada con una alta expresión de mRNA de IFNγ y bajos niveles de mRNA de IL-4; el hallazgo recíproco de una baja expresión de IFNγ y alta de IL-4 se realizó después de la inmunización subcutánea que no proporcionó protección. Además, los ratones no vacunados infectados por microorganismos vivos pudieron salvarse mediante la inyección de IFNγ y anti-IL-4. Estos resultados son compatibles con la expansión preferencial de una población de células Th1 secretoras de IFNγ protectoras por inmunización intraperitoneal o intravenosa, y de células Th2 no protectoras que producen IL-4 en los animales inyectados por vía subcutánea. La capacidad del IFNγ, la citocina Th1 característica, para inhibir la proliferación de los clones Th2, y de IL-4 e IL-10 derivadas de Th2 para bloquear tanto la proliferación como la liberación de citocinas por las células Th1, pareciera poner la cuestión más allá de cualquier duda razonable (fig. 10-6).

La clasificación original de Mossman-Coffman en las subpoblaciones Th1 y Th2 fue predicada sobre la base de los datos obtenidos con clones que habían sido mantenidos en cultivo durante períodos prolongados y podrían haber sido artificios de las condiciones in vitro. El uso de anticuerpos monoclonales específicos de citocinas para la tinción fluorescente intracelular, y de ensayos ELISPOT (véase pág. 155) para la detección de las moléculas secretadas, demostró que la dicotomía Th1/Th2 también se evidencia en muestras de células en fresco y, por lo tanto, también se aplica in vivo. No obstante, tal vez sea mejor no estar tan rígidamente limitado en el pensamiento por el paradigma Th1/Th2, sino más bien considerar las células T como potencialmente productoras de un espectro completo de perfiles de citocinas (Th0, figura 10-6), con una posible desviación de las respuestas hacia los patrones Th1 y Th2 extremos, que depende de la naturaleza del estímulo antigénico. Por lo tanto, también puede haber otras subpoblaciones, en particular las células productoras del factor de crecimiento en transformación-β (TGFβ) y las células Th3/Tr1 (T. reguladoras 1) productoras de IL-10, las cuales son de interés porque estas citocinas pueden mediar los efectos inmunosupresores y estar involucradas en la inducción de tolerancia inducida en las mucosas (véase pág. 510).

Cuadro 10-2. *Patrones de citocinas de los clones de células T helper. La interleucina-10 no está enumerada en el cuadro. Aunque se la clasifica como una citocina Th2 en el ratón, es producida tanto por células Th1 como Th2 en el ser humano*

PATRONES DE CITOCINAS DE LOS CLONES DE CÉLULAS T		
	Th1	Th2
IFNγ	▨	
IL-2	▨	
Linfotoxina (TNFβ)	▨	
TNF (TNFα)	▨	
GM-CSF	▨	
IL-3	▨	▨
IL-4		▨
IL-5		▨
IL-6		▨
IL-13		▨

▨ ++ ☐ + ☐ Negativo

Th1/2, T-helper1/2.

Las interacciones con células del sistema inmune innato desvían la respuesta Th1/Th2

Las células presentadoras de antígeno, y en particular las células dendríticas, parecen ser funda-

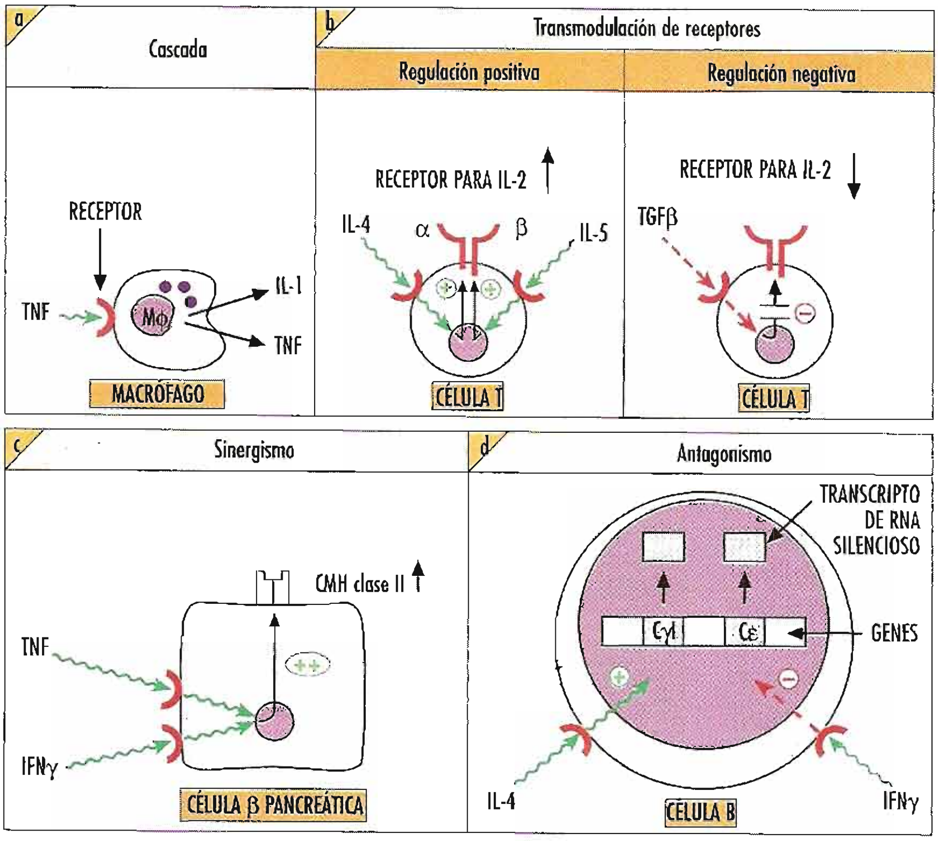


Fig. 10-5. Red de interacciones de las citocinas. **a)** Cascada: en este ejemplo, el TNF induce su propia secreción (autocrina) y la de IL-1 en el macrófago. (Obsérvese que todos los diagramas de esta figura están simplificados, ya que los efectos sobre el núcleo se deben a mensajeros como resultado de la combinación de la citocina con su receptor de superficie.) **b)** Transmodulación del receptor, que muestra la regulación en más de cada cadena que forma el receptor para IL-2 de alta afinidad en una célula T activada por citocinas individuales y la regulación en menos por TGFβ. **c)** Sinergismo de TNF e IFNγ en la regulación en más de las moléculas de CMH clase II de superficie sobre las células secretantes de insulina pancreáticas cultivadas. **d)** Antagonismo de IL-4 e IFNγ sobre la transcripción de mRNA silencioso ("estéril") que se relaciona con el cambio de isotipo (véase fig. 10-17). Mϕ, macrófago.

mentales para impulsar la diferenciación hacia un fenotipo Th1 o Th2. La IL-12 parece ser particularmente importante para la producción de células Th1 y la IL-4 para la producción de células Th2. La invasión de las células fagocíticas por patógenos intracelulares induce la secreción copiosa de IL-12, la que a su vez estimula la producción de IFNγ por las células NK. Estas dos citocinas impulsan en forma selectiva la diferenciación del desarrollo de Th1 e inhiben las respuestas Th2 (fig. 10-6). Sin embargo, los efectos de la IL-4 parecen ser dominantes sobre la IL-12 y, por lo tanto, las cantidades de IL-4 en relación con las de IL-12 e IFNγ tienen importancia fundamental para determinar la diferenciación de las células Th0 en Th1 o Th2 (fig. 10-7). La IL-4 regula en menos la expresión de las subunidad β_2 de la IL-12R necesaria para la respuesta a la IL-12, lo que polariza más la dominancia Th2.

Una población de células T especiales, las NK que poseen tienen el marcador NK1.1$^+$, con la estimulación libera con rapidez un patrón de citocinas dominadas por IL-4. Estas células tienen muchas características no comunes. Pueden ser CD4$^-$8$^-$ o CD4$^+$8$^-$ y expresan bajos niveles de receptores αβ de células T con una cadena α invariante y β muy restringida; y muchos de estos receptores reconocen la molécula CD1 similar al CMH no clásico. Su morfología y el contenido de sus gránulos son intermedios entre las células T y las NK. Aunque expresan TCRαβ, existe una tendencia a clasificarlas en la franja del sistema inmune "innato" en relación con sus características primitivas y posesión del receptor NK1.1 similar a la lectina, que puede estar involucrado en el reconocimiento de los hidratos de carbono microbianos.

Si bien existen ciertas evidencias que indican la existencia de subpoblaciones de células dendríticas especializadas para la estimulación de las poblaciones Th1 o Th2, es un área que aún se encuentra en intensa investigación. Sin embargo, debe ser obvio, a partir del análisis anterior, que las citocinas producidas en la vecindad inmediata de la célula T serán importantes. Para dar un ejemplo reciente, Cantor y col. produjeron una deleción homóloga del gen para la citocina Eta-1 (osteopontina) en ratones y observaron que estos animales tenían una inmunidad gravemente deteriorada contra la infección por el virus herpes simple y contra la bacteria intracelular *Listeria monocytogenes*. Esto se debía a una inmunidad deficiente en Th1, causada por la reducción de IL-12 e IFNγ, y al aumento de la producción de IL-10. Al parecer la producción de Eta-1 por las células T activadas estimula la producción de IL-12, por células del linaje de macrófagos, y regula en menos la producción de IL-10. Es interesante destacar que las células T secretan tanto la forma de Eta-1 fosforilada con serina como la no fosforilada y el efecto de la IL-12 depende de la fosforilación, mientras que el efecto de la IL-10 no lo es, lo que indica que la fosforilación puede regular la actividad de las proteínas secretadas.

Las células T citotóxicas pueden subdividirse también en Tc1/Tc2

Los clones de células T citotóxicas humanas obtenidos por dilución limitante también poseen la característica de secretar citocinas particulares. Así, las células Tc1 secretan IFNγ pero no IL-4, mientras que las células Tc2 secretan IL-4 pero no IFNγ. Estos clones no muestran ninguna diferencia en su función citolítica, pero cuando son cultivados con células T CD4$^+$, los clones Tc1 inducen células Th1, mientras que los clones Tc2 inducen células Th2.

LAS CÉLULAS T ACTIVADAS PROLIFERAN EN RESPUESTA A LAS CITOCINAS

En lo que concierne a las células T, la amplificación que sigue a la activación depende de manera crítica de la IL-2 (fig. 10-8). Esta citocina es un péptido único, de peso molecular 15,5 kDa, que sólo actúa sobre células que expresan receptores para IL-2 de alta afinidad (fig. 10-2). Estos receptores no están presentes en las células en reposo, pero son sintetizados a las pocas horas de su activación.

La separación de una población de células T activadas en células con receptores para IL-2 de alta afinidad y de baja afinidad mostró con claridad que una cantidad suficiente de receptores de alta afinidad es obligatoria para la acción mitogénica de IL-2. Las cantidades de estos receptores sobre las células aumentan bajo la acción del antígeno y de IL-2, y a medida que el antígeno es eliminado, la cantidad de receptores disminuye y, con eso, la reactividad a IL-2. Se debe apreciar que si bien la IL-2 es un factor de crecimiento de las células T inespecífico desde el punto de vista inmunitario, sólo funciona de manera apropiada en respuestas específicas, porque las células T no estimuladas no expresan receptores para IL-2.

Los blastos de células T también producen un conjunto impresionante de otras citocinas; el efecto proliferativo de la IL-2 es reforzado por la acción de la IL-4 y, en cierta medida, de la IL-6, que reaccionan con receptores correspondientes sobre las célu-

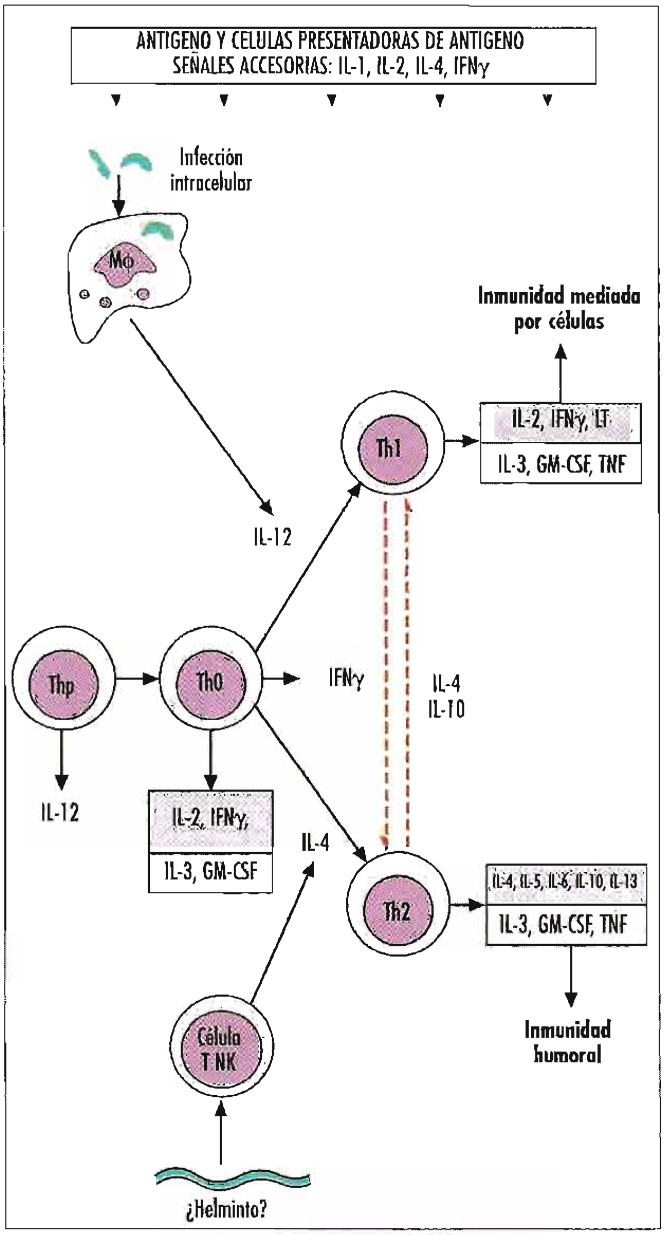


Fig. 10-6. Generación de las subpoblaciones de CD4 Th1 y Th2. Se cree que, luego de la estimulación inicial de las células T, surge una gama de células que producen un espectro de patrones de citocinas. En diferentes condiciones la población resultante se puede desviar hacia los dos extremos. La IL-12, posiblemente producida a través de un efecto de tipo "innato" de una infección intracelular en los macrófagos, estimula el desarrollo de células Th1, que producen las citocinas características de la *inmunidad mediada por células*. La IL-4, producida tal vez por la interacción de microorganismos con el receptor NK1.1$^+$ similar a la lectina sobre las células T NK, desvía el desarrollo hacia la producción de células Th2, cuyas citocinas ayudan a la progresión de las células B a la secreción de anticuerpos y a la provisión de *inmunidad humoral*. Las citocinas producidas por subpoblaciones Th1 y Th2 polarizadas son mutuamente inhibidoras. LT, linfotoxina (TNFβ); Thp, precursor de la célula T helper; Th0, célula helper temprana que produce un espectro de citocinas; las otras abreviaturas son iguales a las del cuadro 10-1.

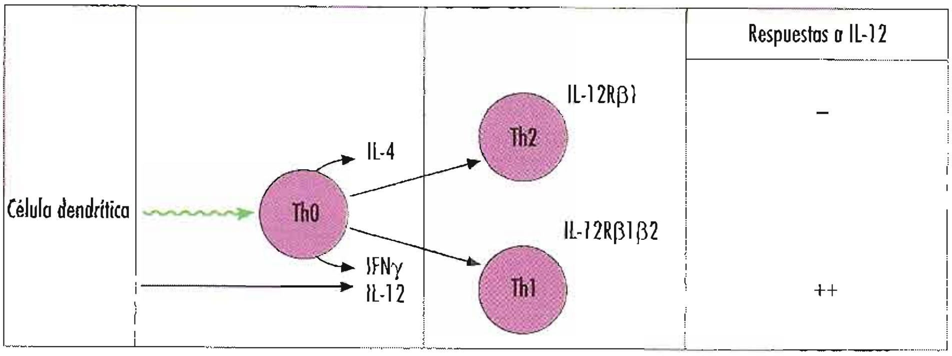


Fig. 10-7. La polarización de las respuestas de las células T helper es impulsada por células dendríticas. La activación inicial de la célula Th0 depende de la presentación de péptido-CMH al TCR, junto con señales coestimuladoras como las proporcionadas por CD80 y CD86 (B7.1 y B7.2, respectivamente) sobre la célula dendrítica. Después las células T son impulsadas hacia un fenotipo Th2, por la presencia de IL-4, o Th1, por la presencia de IL-12 e IFNγ. Las células Th0 expresan tanto las cadenas β_1 como las β_2 del receptor para IL-12, pero la IL-4 produce la pérdida de expresión de la cadena β_2. Mientras que la IL-12 es predominantemente un producto del linaje de macrófagos/células dendríticas, la IL-4 es producida por algunos tipos celulares, entre los que se incluyen mastocitos, células T γδ, células T NK, y células Th0 y Th2.

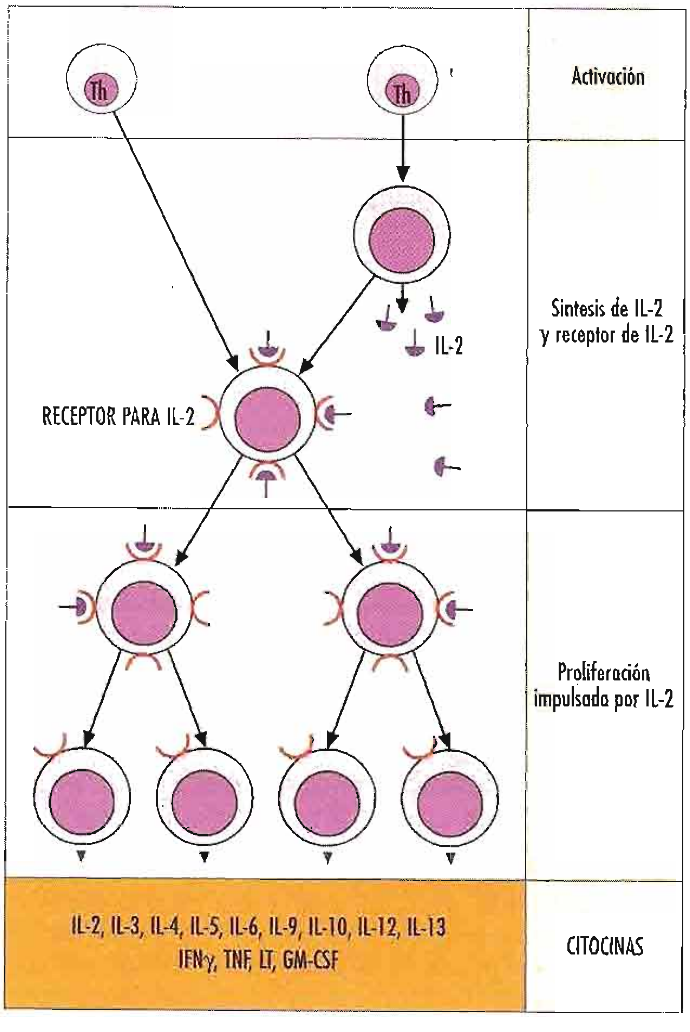

Th
Th
Activación
IL-2
Síntesis de IL-2 y receptor de IL-2
RECEPTOR PARA IL-2
Proliferación impulsada por IL-2
IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-12, IL-13
IFNγ, TNF, LT, GM-CSF
CITOCINAS

Fig. 10-8. Los blastos T activados que expresan receptores de superficie para IL-2 proliferan en respuesta a la IL-2, producida por sí misma o por otro subgrupo de células T. La expansión es controlada a través de la regulación en menos del receptor para IL-2 por la propia IL-2. La población expandida secreta una amplia variedad de citocinas biológicamente activas, de las cuales la IL-4 también aumenta la proliferación de células T.

las T que se dividen. No debemos perder la visión de la importancia de los mecanismos de control; los candidatos obvios para asumir este papel son TGFβ, que bloquean la proliferación inducida por IL-2 (fig. 10-5b) y la producción de TNF (TNFα) y linfotoxina (TNFβ), y las citocinas IFNγ, IL-4 e IL-12, que median el antagonismo mutuo de los subgrupos Th1 y Th2.

LOS EFECTORES DE LAS CÉLULAS T EN LA INMUNIDAD MEDIADA POR CÉLULAS

Las citocinas median las respuestas inflamatorias crónicas

Además de su papel en la respuesta adaptativa, las citocinas de células T son responsables de generar reacciones inflamatorias crónicas, específicas para el antígeno, que atacan a los parásitos intracelulares (figs. 10-4b y 10-9), aunque existe un énfasis diferente sobre el patrón de los factores involucrados (véase pág. 311).

Acontecimientos tempranos

Es probable que el acontecimiento iniciador sea una respuesta inflamatoria local a la lesión tisular, causada por el agente infeccioso que regularía en más la síntesis de moléculas de adhesión como VCAM-1 (molécula de adhesión celular vascular) e ICAM-1 sobre las células endoteliales vasculares ad-

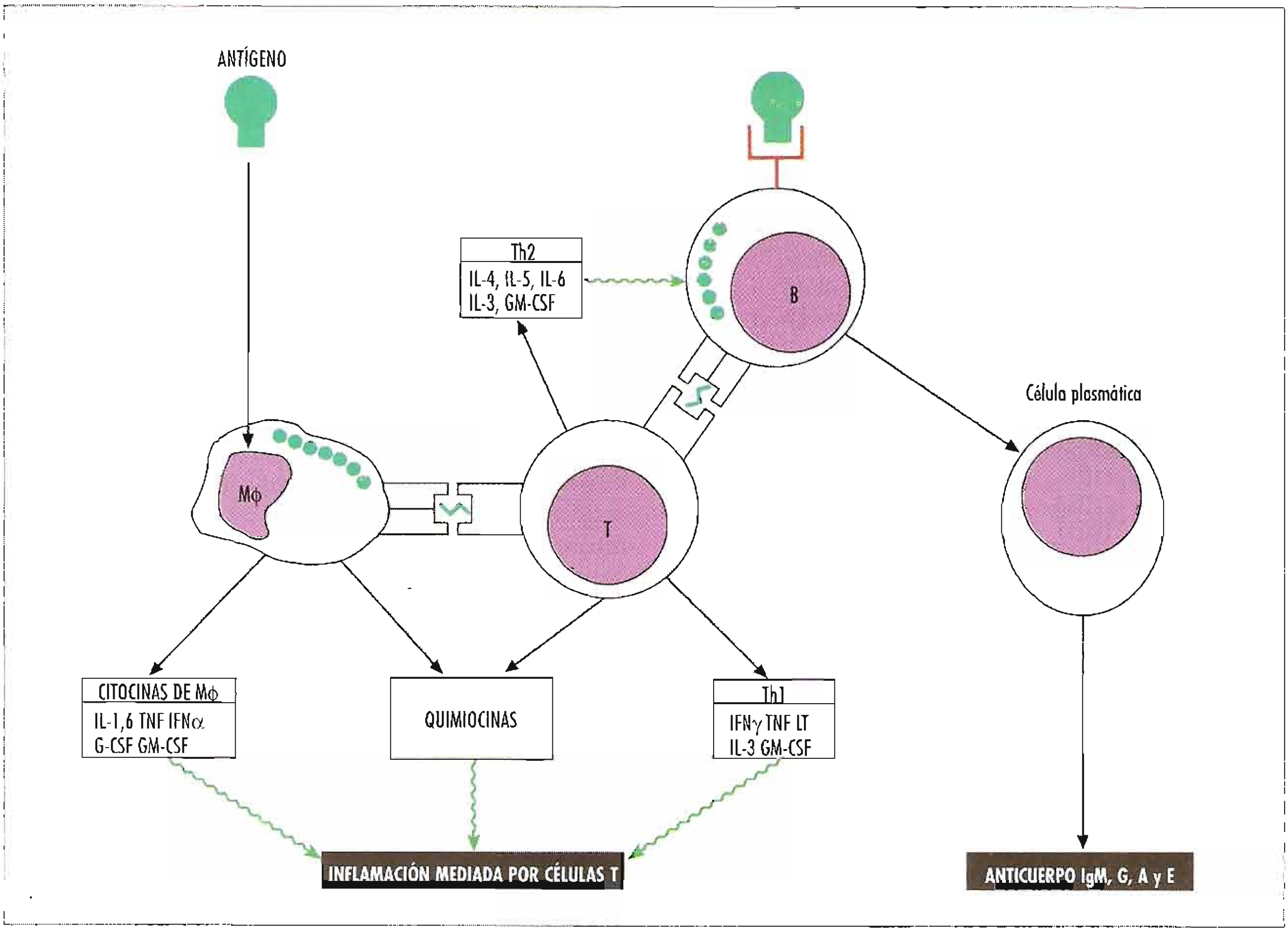


Fig. 10-9. **Citocinas que controlan las respuestas inflamatorias mediadas por anticuerpos y células T.** Las abreviaturas son las mismas que las del cuadro 10-1.

yacentes. Éstas permitirían el ingreso de las células T de memoria al sitio infectado a través de sus receptores guía VLA-1 y LFA-1 (véase pág. 167). El contacto con el antígeno procesado derivado del parásito intracelular activa la célula T específica e induce la liberación de citocinas secretadas. El TNF aumenta todavía más la expresión de moléculas accesorias endoteliales e incrementa las posibilidades de que otras células de memoria en la circulación sean guiadas para encontrar al antígeno que provocó la inflamación.

Quimiotaxis

El reclutamiento de células T y macrófagos en el sitio inflamatorio (fig. 10-9) aumenta mucho por la acción de citocinas quimiotácticas denominadas **quimiocinas**. Éstas pueden ser producidas potencialmente por distintos tipos celulares y se dividen en cuatro familias, sobre la base de la disposición de los dos primeros (N-terminal) de los cuatro residuos canónicos de cisteína (cuadro 10-3). Las quimiocinas CXC tienen un aminoácido y las CX3C tienen tres aminoácidos entre las dos cisteínas. Las quimiocinas CC tienen cisteínas adyacentes en esta localización, mientras que las quimiocinas C carecen de las cisteínas 1 y 3 halladas en otras quimiocinas. Las quimiocinas se unen a siete receptores transmembrana acoplados a proteína G (fig. 10-2). A pesar de que una sola quimiocina a veces puede unirse a más de un receptor, muchas quimiocinas tienen una fuerte especificidad tisular y para el receptor. Ellas desempeñan papeles importantes en la inflamación, desarrollo de órganos linfoides, tráfico celular, compartimentación celular dentro de los tejidos linfoides, desarrollo de Th1/Th2, angiogénsis y cicatrización de heridas.

Activación de macrófagos

Los macrófagos con microorganismos intracelulares son activados por agentes como IFNγ, GM-

Cuadro 10-3. *Quimiocinas y sus receptores. Las quimiocinas se agrupan según la disposición de sus cisteínas (véase el texto). La letra L designa ligando (es decir, la quimiocina individual), mientras que la letra R designa receptores. Los nombres entre paréntesis se refieren a los homólogos murinos de la quimiocina humana donde los nombres de éstos difieren, o la quimiocina murina sola si no se ha descrito ningún equivalente humano*

FAMILIA	QUIMIOCINA	NOMBRES ALTERNATIVOS	QUIMIOTAXIS	RECEPTORES
CXC	CXCL1	GROα/MGSAα	Neutrófilo	CXCR2 > CXCR1
	CXCL2	GROβ/MGSAβ	Neutrófilo	CXCR2
	CXCL3	GROγ/MGSAγ	Neutrófilo	CXCR2
	CXCL4	PF4	Eosinófilo, basófilo	¿?
	CXCL5	ENA-78	Neutrófilo	CXCR2
	CXCL6	GCP-2/(CKα-3)	Neutrófilo	CXCR1, CXCR2
	CXCL7	NAP-2	Neutrófilo	CXCR2
	CXCL8	IL-8	Neutrófilo	CXCR1, CXCR2
	CXCL9	Mig	T, NK	CXCR3
	CXCL10	IP-10	T, NK	CXCR3
	CXCL11	I-TAC	T, NK	CXCR3
	CXCL12	SDF-1α/β	T, B, DC, Mono	CXCR4
	CXCL13	BLC/BCA-1	B	CXCR5
	CXCL14	BRAC/Bolekine	¿?	¿?
	CXCL15	Lungkine	Neutrófilo	¿?
C	XCL1	Linfotactina/SCM-1α/ATAC	T	XCR1
	XCL2	SCM-1β	T	XCR1
CX3C	Cx3CL1	Fractalquina/Neurotactina	T, NK, Mono	CX3CR1
CC	CCL1	I-309 (TCA-3/P500)	Mono	CCR8
	CCL2	MCP-1/MCAF	T, NK, DC, Mono, basófilo	CCR2
	CCL3	MIP-1α/LD78α	T, NK, DC, Mono, eosinófilo	CCR1, CCR5
	CCL4	MIP-1β	T, NK, DC, Mono	CCR5
	CCL5	RANTES	T, NK, DC, Mono, eosinófilo, basófilo	CCR1, CCR3, CCR5
	(CCL6)	(C10/MRP-1)	¿?	¿?
	CCL7	MCP-3	T, NK, DC, Mono, eosinófilo, basófilo	CCR1, CCR2, CCR3
	CCL8	MCP-2	T, NK, DC, Mono, basófilo	CCR3
	(CCL9/10)	(MRP-2/CCF18/MIP-1γ)	¿?	¿?
	CCL11	Eotaxina-1	T, DC, eosinófilo, basófilo	CCR3
	(CCL12)	(MCP-5)	T, NK, DC, Mono, basófilo	CCR2
	CCL13	MCP-4	T, NK, DC, Mono, eosinófilo, basófilo	CCR2, CCR3
	CCL14	HCC-1/HCC-3	T, Mono, eosinófilo	CCR1
	CCL15	HCC-2/Leucotactina-1/MIP-1δ	T	CCR1, CCR3
	CCL16	HCC-4/LEC/(LCC-1)	T	CCR1
	CCL17	TARC	T, DC, Mono	CCR4
	CCL18	DCCK1/PARC/AMAC-1	T	¿?
	CCL19	MIP-3β/ELC/Exodus-3	T, B, DC	CCR7
	CCL20	MIP-3α/LARC/Exodus-1	DC	CCR6
	CCL21	6Cquina/SLC/Exodus-2/(TCA-4)	T, DC	CCR7
	CCL22	MDC/STCP-1/ABCD-1	T, DC, Mono	CCR4
	CCL23	MPIF-1	T	CCR1
	CCL24	MPIF-2/Eotaxina-2	T, DC, eosinófilo, basófilo	CCR3
	CCL25	TECK	T, DC, Mono	CCR9
	CCL26	SCYA26/Eotaxina-3	T	CCR3
	CCL27	CTACK/ALP/ESquina	T	CCR10

B, célula B; DC, célula dendrítica; Mono, monocito; NK, natural killer; T, célula T.

CSF, IL2 y TNF, y entonces adquieren poderes microbididas. Durante este proceso, algunos macrófagos pueden morir (probablemente ayudados por las células T citotóxicas) y liberar parásitos vivos, pero éstos serán atacados por los macrófagos nuevos, atraídos hasta el sitio por quimiotaxis y activados de nuevo por las citocinas locales, de modo que hayan pasado el estadio de diferenciación en el que los parásitos intracelulares pueden alterar sus mecanismos de destrucción (véase pág. 297).

Combate de la infección viral

Las células infectadas por virus necesitan una estrategia diferente y una rama de esa estrategia aprovecha el mecanismo innato del interferón para impedir el acceso del virus a la maquinaria replicativa de la célula. El IFNγ, el TNF y la linfotoxina inducen la 2'-5'(A)sintetasa, una proteína involucrada en la protección viral. El TNF tiene otra cuerda para su arco en su capacidad para destruir ciertas células, dado que la muerte de una célula infectada antes de que se haya producido la replicación viral obviamente es beneficiosa para el huésped. Su potencial citotóxico fue reconocido primero utilizando células tumorales como blancos (de ahí el nombre), y el IFNγ y la linfotoxina pueden actuar en forma sinérgica; el primero prepara la célula para la destrucción al inducir la formación de receptores para TNF.

Células T killer

La generación de las células T citotóxicas

Las células T citotóxicas (Tc), también llamadas linfocitos T citotóxicos, constituyen el otro brazo importante de la respuesta inmune mediada por células y tienen importancia estratégica para destruir células infectadas por virus y tal vez contribuir a los mecanismos de vigilancia postulados contra las células cancerosas.

Los precursores de las células citotóxicas reconocen el antígeno sobre la superficie de las células en asociación con moléculas clase I del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) y, al igual que las células B, de manera habitual necesitan la colaboración de las células T. Sin embargo, el mecanismo por el cual se ofrece ayuda puede ser muy diferente. Como explicamos antes (véase pág. 194), la colaboración eficaz entre las células T y B habitualmente es "cognada", ya que las células colaboradoras reconocen dos epítopos que están conectados físicamente (por lo general sobre la misma molécula). Si podemos recordarle al lector sin ofenderlo, la razón para esto es que los receptores Ig de superficie sobre la célula B capturan el antígeno nativo, lo procesan internamente y lo presentan a la célula Th como un péptido asociado con CMH clase II. Si bien se demostró que los epítopos ligados sobre el antígeno también son necesarios para la coopoeración entre Th y el precursor de las células T citotóxicas (Tcp), la naturaleza del reconocimiento de la célula T impide focalizar el antígeno nativo sobre el Tcp por su receptor para el procesamiento ulterior, aun cuando esa célula fuera a expresar CMH II, algo que no hace en su estado de reposo. Parece más probable que Th y Tcp se unan a la misma CPA, por ejemplo una célula dendrítica, la cual ha procesado el antígeno viral y muestra péptidos virales procesados asociados tanto con clase II (para la célula Th) como con clase I (para el Tcp) en su superficie; no se puede excluir la posibilidad de que las CPA puedan ser las mismas infectadas por el virus. Las citocinas que provienen de la Th activada serán liberadas en íntima proximidad al Tcp que recibe la señal antígeno-CMH; la Th será estimulada para proliferar y diferenciarse en una Tc bajo la influencia de la Il-2 y la IL-6 (fig. 10-10a). Sin embargo, la interacción de la CPA con Th y con la célula Tc puede separarse en forma temporaria y, en este caso, parece ser que la célula T helper "autoriza" a la célula dendrítica a interactuar en el futuro con la célula T citotóxica. Lo hace al activar la célula dendrítica a través del CD40, regula así en más las moléculas coestimuladoras y la producción de citocinas, en particular IL-12, por la célula dendrítica (fig. 10-10b). También se cree que hay un mecanismo de activación de la TC completamente independiente de la célula Th. Por ejemplo, esto se demostró en la respuesta a los antígenos proteicos administrados con coadyuvantes potentes, como las secuencias de DNA inmunoestimuladoras (ISS), que en este caso posiblemente involucre la producción de citocinas proinflamatorias inducidas por el coadyuvante y moléculas coestimuladoras de la superficie celular.

El proceso letal

En general, las células T citotóxicas (Tc) son del subgrupo CD8 y su unión a la célula blanco a través del reconocimiento del antígeno más el CMH clase I por el receptor de la célula T es facilitado por la asociación entre el CD8 y clase I y por otras moléculas accesorias, como LFA-1 y CD2 (véase la figura 9-3).

Las células T citotóxicas son **células secretoras inusuales**, que utilizan un lisosoma modificado

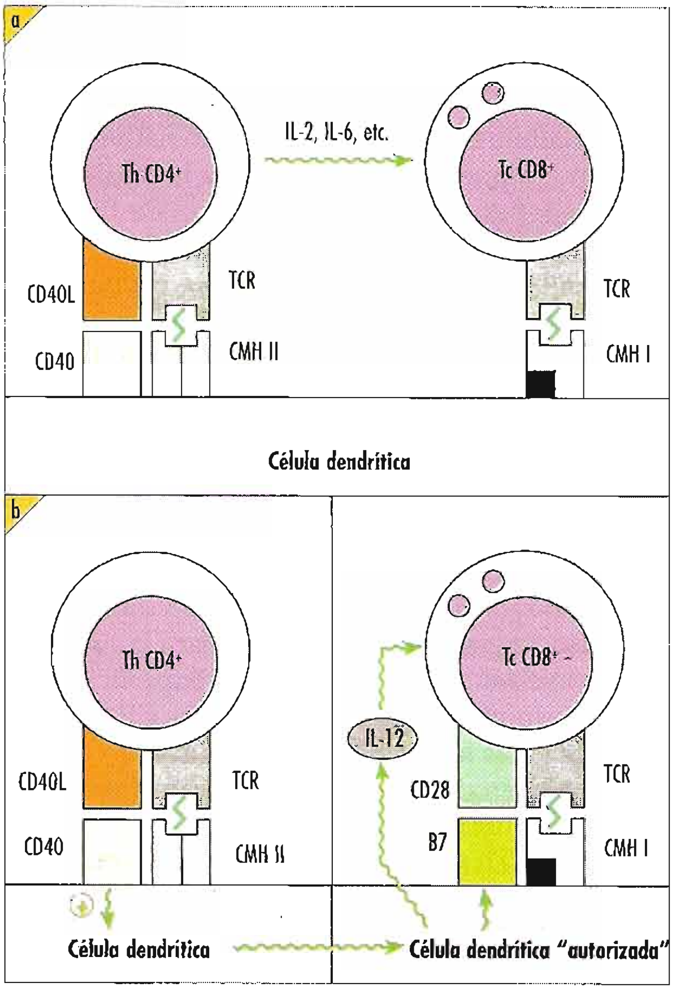


Fig. 10-10. Activación de las células T citotóxicas por las células T helper. La activación de las células T helper $CD4^+$ (Th) por la célula dendrítica involucra una señal coestimuladora de ligando CD40-CD40 (CD154) y el reconocimiento de un péptido de CMH clase II presentado por el receptor de la célula T. **a)** Cuando se presentan al mismo tiempo tanto Th como el linfocito T citotóxico (Tc), la liberación de citocinas desde las células Th activadas estimula la diferenciación del precursor $CD8^+$ en un Tc activado y restringido por CMH clase I. Sin embargo, tal como se muestra en **b)**, el Th y el Tc no necesitan interactuar con la célula presentadora de antígenos al mismo tiempo. En este caso, la célula Th "autoriza" a la célula dendrítica para la interacción futura con una célula Tc. Por lo tanto, la célula Th, al comprometer a CD40, impulsa a la célula dendrítica desde un estado de reposo a un estado activado con regulación positiva de moléculas coestimuladoras como B7.1 y B7.2 (CD80 y CD86, respectivamente) y a una mayor producción de citocinas, sobre todo de IL-12.

para secretar sus proteínas líticas. Luego de la llegada de la señal TCR/CD3, los **gránulos líticos** son impulsados a lo largo del sistema de microtúbulos a a una velocidad de hasta 1,2 μm/s y entregados en el punto de contacto entre la Tc y su blanco (fig. 10-11). Esto garantiza la especificidad de la destrucción dictada por el reconocimiento del blanco por parte del TCR y limita cualquier daño colateral en las células circundantes. Como sucede con las células NK, que tienen gránulos comparables (véase pág. 19), la exocitosis del contenido de los gránulos, que incluye perforinas, granzimas y TNF, produce lesiones en la membrana de la célula blanco y muerte al inducir la apoptosis. Las Tc están dotadas de un segundo mecanismo de destrucción que incluye Fas y su ligando (véase pág. 20), pero la incapacidad de los ratones por noqueo con deleción de perforina para eliminar los virus de manera efectiva sugiere que los gránulos de secreción proporcionan el ataque dominante sobre las células con infección viral. La videomicroscopia muestra que las Tc son asesinas seriales. Después del "beso de muerte", la célula T puede desvincularse y buscar otra víctima, con una síntesis rápida de nuevos gránulos.

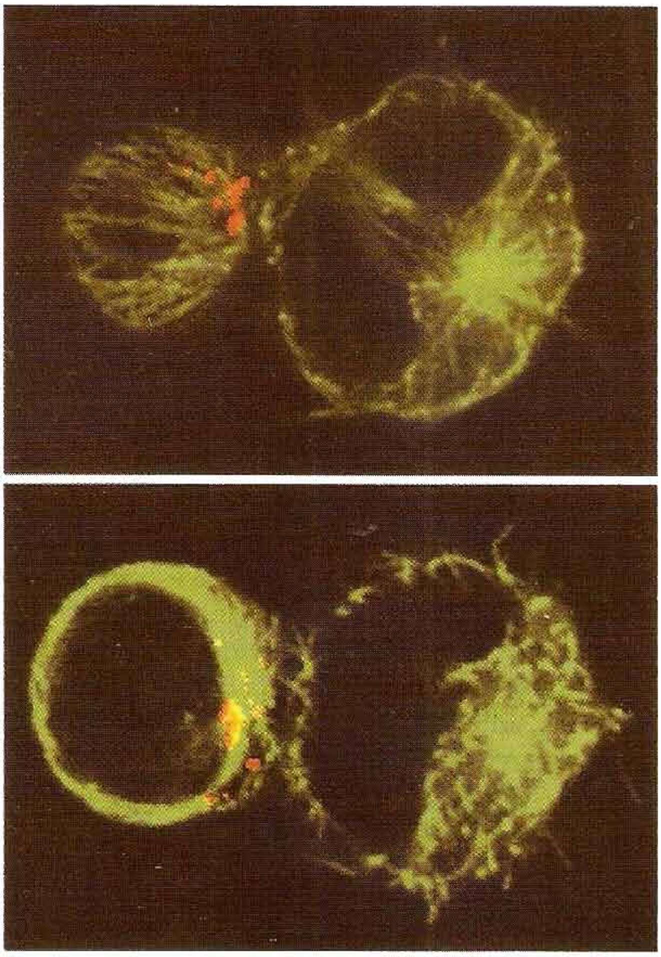


Fig. 10-11. Conjugación de una célula T citotóxica (a la izquierda) con su blanco; en este caso es un mastocitoma de ratón, que muestra la polarización de los gránulos hacia el blanco en el punto de contacto. Los citoesqueletos de ambas células se ponen de manifiesto mediante tinción inmunofluorescente, con un anticuerpo contra la tubulina (verde), y los gránulos líticos con un anticuerpo contra la granzima A (rojo). Veinte minutos después de la conjugación el citoesqueleto de la célula blanco aún puede estar intacto (arriba), pero es interrumpido con rapidez (abajo). (Fotografías proporcionadas por gentileza del doctor Gillian Griffiths.)

Tampoco debemos perder de vista que las células CD8 sintetizan otras citocinas, como IFNγ, que también tienen potencial antiviral.

La inflamación debe estar regulada

Una vez que el proceso inflamatorio ha eliminado el agente desencadenante, el organismo necesita eliminarlo. La IL-10 tiene profundos efectos antiinflamatorios e inmunorreguladores, al actuar sobre macrófagos y células Th1 para inhibir la liberación de factores como IL-1 y TNF. Induce la liberación de receptores solubles para TNF, que son inhibidores endógenos del TNF, y regula en menos el receptor TNF de superficie. Los receptores solubles para IL-1 liberados durante la inflamación pueden actuar para "degradar" la propia IL-1. La IL-4 no solo actúa para limitar a las células Th1, sino también regula en más la producción del inhibidor natural de IL-1, el antagonista del receptor para IL-1 (IL-1Ra). Es más difícil analizar el papel del TGFβ porque tiene algunos efectos proinflamatorios y otros antiinflamatorios, aunque es indudable que promueve la reparación tisular después de la resolución de la inflamación.

LA PROLIFERACIÓN Y LA MADURACIÓN DE LAS RESPUESTAS DE LAS CÉLULAS B ESTÁN MEDIADAS POR CITOCINAS

La activación de las células B por Th, a través del reconocimiento por el TCR del péptido antigénico unido al CMH más la **interacción** coestimuladora **CD40L-CD40**, conduce a la regulación en más del receptor de superficie para IL-4. La liberación local copiosa de esta citocina desde las Th impulsa luego la proliferación y expansión clonal poderosas de la población de células B activadas. La IL-2 y la IL-13 también contribuyen a este proceso (fig. 10-12).

Bajo la influencia de la IL-4 y la IL-13, los clones expandidos pueden diferenciarse y madurar como células que sintetizan IgE. El TGFβ y la IL-5 estimulan a las células a cambiar su clase de Ig a IgA. Las células plasmáticas IgM surgen bajo el tutelaje de la IL-4 más IL-5 mientras que las productoras de IgG son el resultado de la influencia combinada de IL-4, IL-5, IL-6, IL-13 e IFNγ (fig. 10-12).

Los antígenos timoindependientes de tipo 2 pueden activar directamente las células B (véase pág. 191) pero, no obstante, siguen necesitando citocinas para la proliferación eficiente y la producción de Ig. Éstas pueden provenir de células accesorias como las células NK y T NK, que tienen receptores similares a la lectina.

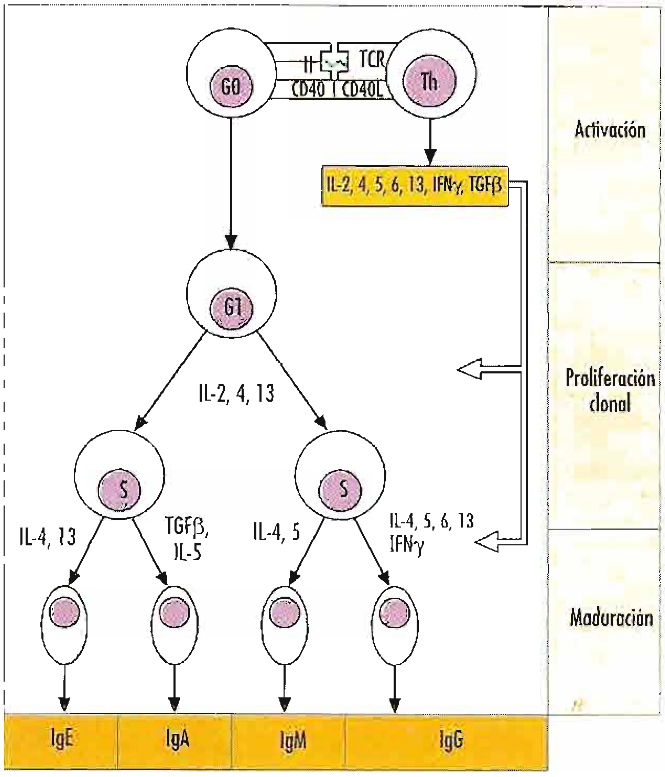


Fig. 10-12. Respuesta de células B al antígeno timodependiente (TD): expansión clonal y maduración de las células B activadas bajo la influencia de factores solubles derivados de la célula T. La coestimulación a través de la interacción CD40L-CD40 es esencial para las respuestas inmunes primaria y secundariamente a los antígenos TD, como también para la formación de centros germinativos y memoria. La expresión de c-*myc*, que es máxima 2 horas después de la estimulación con el antígeno o anti-μ, corre paralela a la sensibilidad a los factores de crecimiento; la transfección con c-*myc* reemplaza a anti-μ.

¿QUÉ SUCEDE EN EL CENTRO GERMINATIVO?

El folículo secundario con su corona o manto de linfocitos pequeños que rodean el centro germinativo pálido es una estructura celular notable y con características singulares. Primero, recordemos los acontecimientos globales descritos en el capítulo 8. La exposición secundaria al antígeno o complejos inmunes induce el aumento de tamaño de los centros germinativos, la formación de otros nuevos, la aparición de células B de memoria y el desarrollo de células productoras de Ig de mayor afinidad. Las células B que ingresan en el centro germinativo se convierten en **centroblastos**, que se dividen con un ciclo muy corto de 6 horas y luego se convierten en **centrocitos** en la zona clara basal que no se dividen, muchos de los cuales mueren por apoptosis (fig. 10-13). A medida que los centrocitos sobrevivientes maduran, se diferencian como **inmunoblastos precursores**

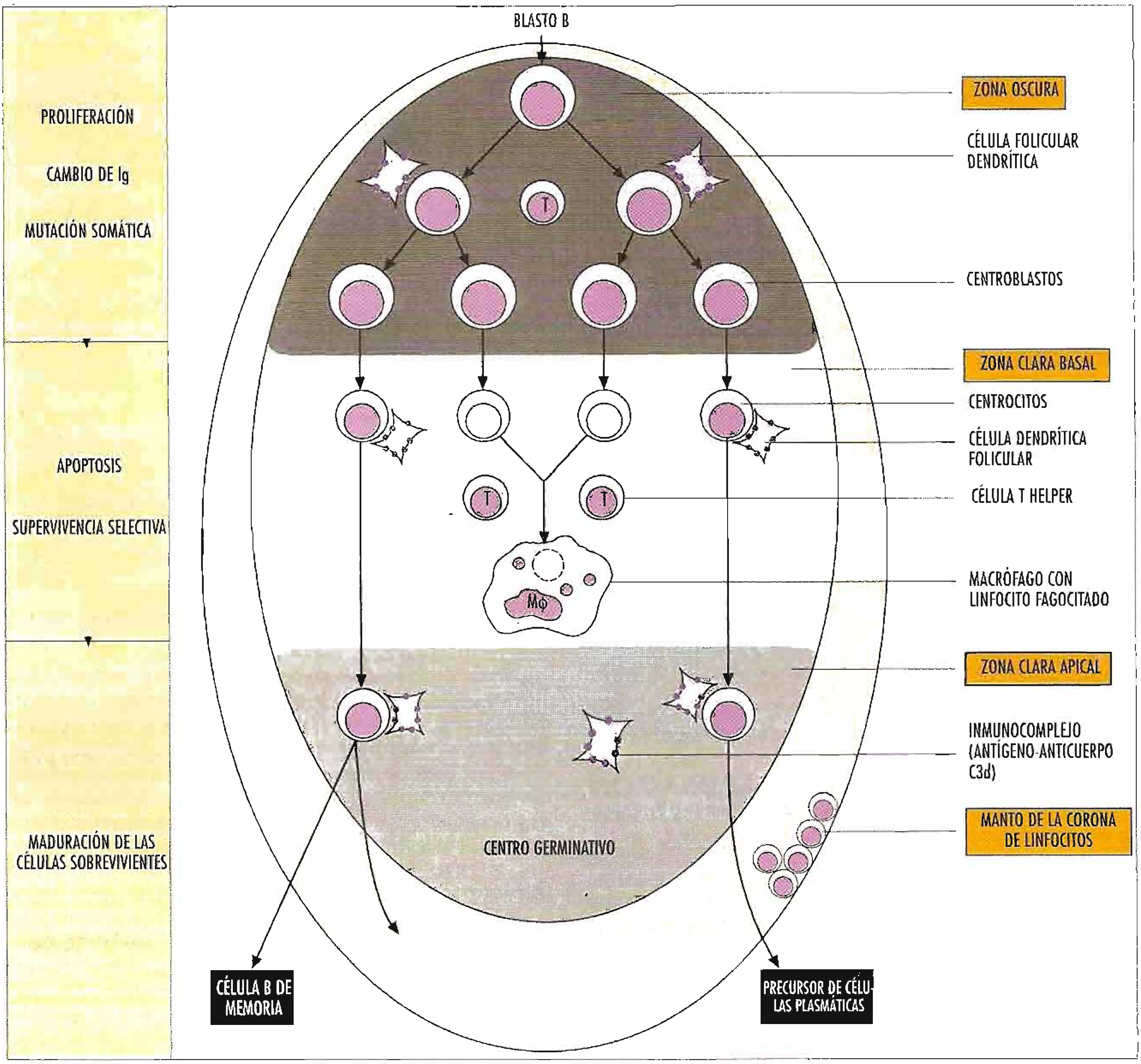

PROLIFERACIÓN
CAMBIO DE Ig
MUTACIÓN SOMÁTICA
APOPTOSIS
SUPERVIVENCIA SELECTIVA
MADURACIÓN DE LAS CÉLULAS SOBREVIVIENTES
BLASTO B
ZONA OSCURA
CÉLULA FOLICULAR DENDRÍTICA
T
CENTROBLASTOS
ZONA CLARA BASAL
CENTROCITOS
CÉLULA DENDRÍTICA FOLICULAR
CÉLULA T HELPER
Mϕ
MACRÓFAGO CON LINFOCITO FAGOCITADO
ZONA CLARA APICAL
INMUNOCOMPLEJO (ANTÍGENO-ANTICUERPO C3d)
MANTO DE LA CORONA DE LINFOCITOS
CENTRO GERMINATIVO
CÉLULA B DE MEMORIA
PRECURSOR DE CÉLULAS PLASMÁTICAS

Fig. 10-13. Acontecimientos que tienen lugar en los centros germinativos linfoides. Las células B de los centros germinativos pueden ser enriquecidas por medio de su afinidad por la lectina aglutinina del maní. Estas células muestran numerosas mutaciones en los genes de los anticuerpos. La expresión de LFA-1 e ICAM-1 en las células B y las células dendríticas foliculares (FDC) en el centro germinativo las torna "pegajosas". Los centroblastos en la base del folículo son fuertemente CD77 positivos. Las células Th tienen el marcador no habitual CD57. Todas las células dendríticas foliculares expresan CD21 y CD54; las de la zona clara apical presentan una fuerte positividad para CD23, las de la zona clara basal expresan poco CD23. A través de sus receptores de superficie, las FDC se unen a inmunocomplejos que contienen antígeno y C3, los cuales son estimuladores muy eficaces de las células B dado que la coligación de los receptores de superficie para antígeno y C3 (CR2) reduce su umbral de activación. Las moléculas coestimulantes CD40 y B7 desempeñan papeles fundamentales. Los anticuerpos contra CD40 impiden la formación de centros germinativos y anti-CD40L puede interrumpir los centros germinativos establecidos dentro de las 12 horas. Anti-B7.2, administrado al comienzo de la respuesta inmune, impide la formación del centro germinativo y, cuando se administra al inicio de la hipermutación, suprime ese proceso. Mϕ, macrófago.

de células plasmáticas, que secretan Ig en ausencia de antígeno, o **en células B de memoria.**

¿Cuál es entonces el escenario subyacente? Luego de la exposición secundaria al antígeno, las células B programadas pueden ser activadas por las células Th paracorticales en asociación con células dendríticas interdigitantes o macrófagos, y migran hasta el centro germinativo. Allí se dividen en res-

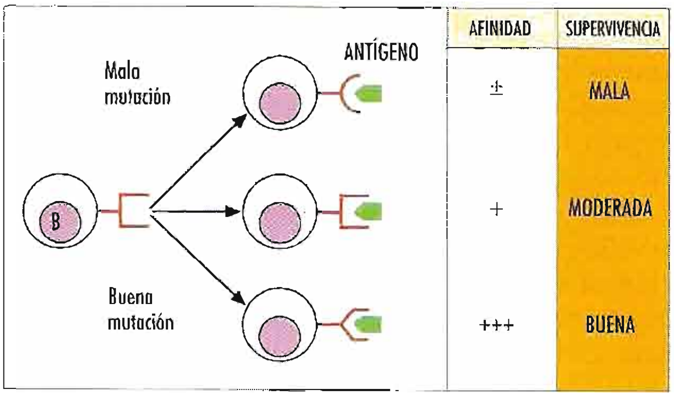


Fig. 10-14. La selección darwiniana por el antígeno de células B con mutantes de anticuerpos de alta afinidad protege contra la muerte celular en el centro germinativo, ya sea a través de enlaces cruzados de sIg por antígeno sobre las células dendríticas foliculares o a través del reconocimiento de las células Th del antígeno procesado y la señalización a través de CD40. En ambos casos, la captura del antígeno, en particular a medida que cae la concentración, será críticamente afectada por la afinidad del receptor de superficie.

puesta a estímulos poderosos provenientes de complejos sobre las células dendríticas foliculares (véase pág. 179) y de citocinas liberadas por las células T en respuesta a las células B presentadoras de antígeno. Durante esta crisis particularmente frenética de división celular, se produce la **hipermutación somática** de los genes de Ig en las células B. Las células también sufren un **cambio de clase de Ig**. En adelante, a medida que se transforman en centrocitos, son vulnerables y mueren con facilidad, desde donde son captados como "cuerpos tingibles" por los macrófagos, a menos que sean rescatadas por la asociación con el antígeno sobre una célula dendrítica folicular. Esto podría ser el resultado del enlace cruzado de los receptores de Ig de superficie y se acompaña con la expresión de bcl-2 que protege contra la apoptosis. La señalización a través de CD40, por la presentación del antígeno a las células Th, también prolongaría la vida del centrocito. En cualquiera de los casos, las interacciones sólo se producen si el receptor Ig de superficie mutado aún se une al antígeno y, como la concentración de antígeno disminuye gradualmente, sólo cuando el receptor es de alta afinidad. En otras palabras, el sistema puede producir anticuerpos de alta afinidad por un proceso darwiniano de mutación de alta frecuencia de los genes de Ig y de selección por el antígeno de las células que tienen el anticuerpo que se une con más firmeza (fig. 10-14). Este aumento de la afinidad en la respuesta a medida que cae el nivel de anticuerpos es de obvio beneficio, dado que una

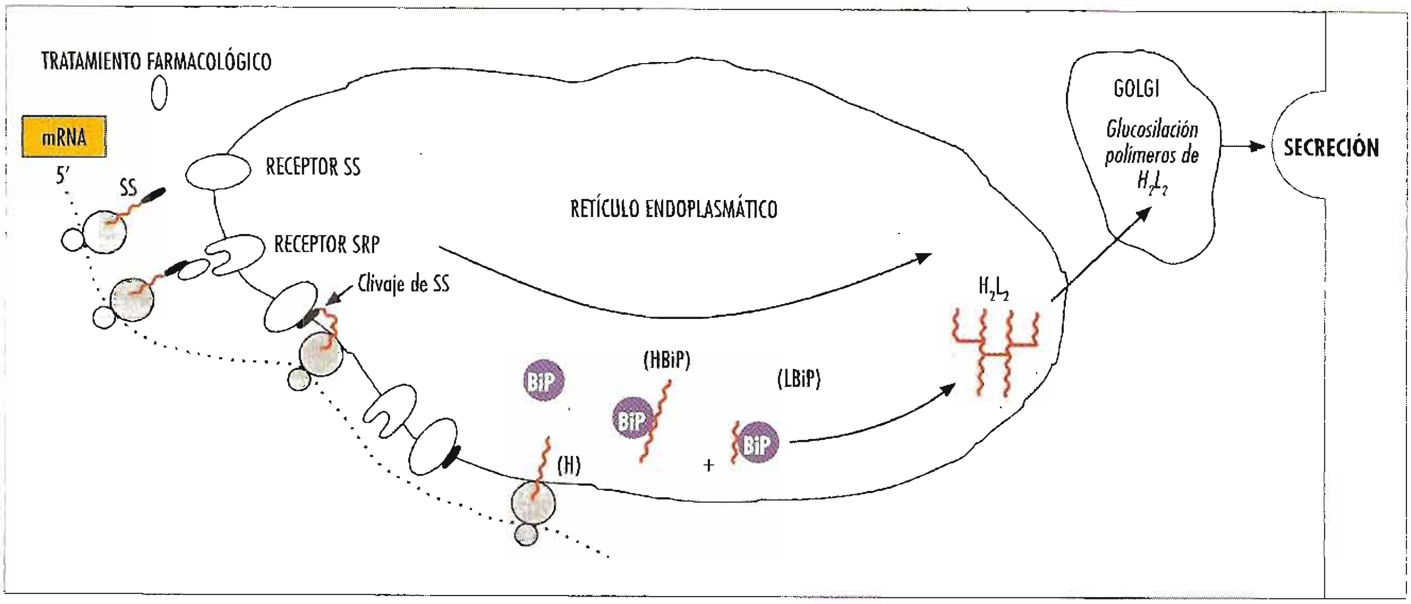


Fig. 10-15. Síntesis de inmunoglobulina. A medida que nRNA se traduce sobre el ribosoma, la secuencia señal (SS) N-terminal es ligada por una partícula de reconocimiento de señal (SRP), que se fija en un receptor sobre la membrana externa del retículo endoplasmático y facilita el ingreso de la cadena naciente de Ig en la luz del retículo endoplasmático. La SS se asocia con un receptor de membrana específico y es clivada; el resto de la cadena, a medida que se alarga, forma complejos con la chaperona molecular BiP (proteína fijadora de cadena pesada) que se une a los dominios C_H1 y V_L de las cadenas pesadas para controlar el plegamiento de la proteína. Las cadenas no ensambladas se oxidan y se disocian como la molécula completa H_2L_2 Ig. Las moléculas H_2L_2 ensambladas pueden abandonar entonces el retículo endoplasmático para la glucosilación terminal en el Golgi y la secreción final. La Ig de receptor de superficie sería insertada por sus secuencias hidrófobas en la membrana del retículo endoplasmático a medida que es sintetizada.

pequeña cantidad de anticuerpos de alta afinidad puede hacer el mismo trabajo que una gran cantidad de anticuerpos de baja afinidad (como en el boxeo, un luchador pequeño pero "bueno" por lo general puede dejar fuera de combate al "grande" pero mediocre).

En este momento se produce una diferenciación adicional. Las células migran hasta los sitios de actividad de las células plasmáticas (p. ej., médula de los ganglios linfáticos) o continúan para expandirse el pool de células B de memoria en función de la citocina y de otras señales recibidas. El compromiso de CD40 por el ligando CD40 sobre una célula T guía la célula B en el compartimiento de memoria.

LA SÍNTESIS DE ANTICUERPOS

Los procesos secuenciales por los que surge la Ig secretada se muestran en la figura 10-15. En la célula formadora de anticuerpos normal hay un recambio rápido de cadenas livianas que están pesentes en ligero exceso. El control defectuoso se produce en muchas células de mieloma y se puede observar una producción excesiva de cadenas livianas o la supresión completa de la síntesis de cadenas pesadas.

Las regiones variable y constante se cortan y empalman de manera conjunta en el mRNA antes de abandonar el núcleo. Los mecanismos diferenciales de corte y empalme también proporcionan una explicación racional para la coexpresión de IgM e IgD de superficie con regiones V idénticas sobre una sola célula, y para el cambio de la producción del receptor de IgM ligado a la membrana a la IgM secretora en la célula formadora de anticuerpos (véanse figs. 4-1 y 4-2).

EL CAMBIO DE CLASE DE INMUNOGLOBULINA SE LLEVA A CABO EN LAS CÉLULAS B INDIVIDUALES

La síntesis de anticuerpos que pertenecen a las distintas clases de inmunoglobulina prosigue con diferentes velocidades. En general, hay una respuesta temprana de IgM que tiende a caer con rapidez. La síntesis de anticuerpos IgG crece hasta su nivel máximo en un período más prolongado. Con la exposición secundaria al antígeno, la evolución temporal de la respuesta de IgM se asemeja a la observada en la primaria. Por el contrario, la síntesis de anticuerpos IgG se acelera con rapidez hasta un título mucho más alto, y hay una caída relativamente lenta en las concentraciones de anticuerpos en suero (fig. 10-16). Es probable que ocurra lo mismo con la IgA, y en algún sentido ambas clases de inmunoglobulinas proporcionan la defensa inmediata principal contra la penetración futura por antígenos extraños.

Las células individuales pueden cambiar de la producción de IgM a IgG. Por ejemplo, la exposición al antígeno de receptores irradiados que reciben cantidades relativamente pequeñas de células linfoides produjo focos esplénicos de células, donde cada uno sintetiza anticuerpos de diferentes clases de cadena pesada que tienen un único idiotipo; el idiotipo común sugiere que cada foco deriva de una sola célula precursora, cuya progenie puede formar anticuerpos de diferente clase.

La síntesis de anticuerpos en la mayoría de las clases muestra una dependencia considerable de la cooperación de las células T en que las respuestas en animales privados de células T son notablemente deficientes; esto es cierto para las respuestas de anticuerpos IgG1, IgG2a, IgA, IgE y parte de la respuesta de anticuerpos IgM del ratón. Los antígenos timoindependientes, como el activador policlonal, la endotoxina del lipopolisacárido (LPS), inducen la síntesis de IgM con algo de IgG2b e IgG3. La inmunopotenciación con el coadyuvante de Freund, una emulsión de aceite en agua que contiene antígeno en la fase acuosa y una suspensión de bacilos tuberculosos muertos en la fase oleosa (véase pág. 343), parece producirse, al menos en parte, por medio de la activación de las células Th que estimulan la producción de anticuerpos en las clases timodependientes. La predicción a partir de esto, que la respuesta a los antígenos timoindependientes (p. ej., polisacárido de *Pneumococcus*, pág. 191) no debe potenciarse por el coadyuvante de Freund, se sostiene en la práctica; más aun, como mencionamos antes, estos antígenos evocan fundamentalmente anticuerpos IgM y escasa memoria inmunitaria, como lo hacen los antígenos timodependientes inyectados en huéspedes con timectomía neonatal deficientes en células T.

Por lo tanto, al menos en los roedores, el cambio de IgM a IgG y otras clases parece estar en gran parte bajo el control de las células T, mediado críticamente por CD40 y citocinas (véase pág. 213). Demos otra mirada a la estimulación de las pequeñas células B IgM de superficie-positivas por el LPS. Como destacamos, por sí solo el mitógeno inespecífico evoca la síntesis de IgM, IgG3 y algo de IgG2b. Luego de agregar IL-4 al sistema hay un cambio de clase de producción de IgM a IgE e IgG1, mientras que el IFNγ estimula el cambio de clase de IgM a IgG2a y TGFβ induce cambio de IgM a IgA o IgG2b. Estas citocinas inducen la formación de transcriptos esté-

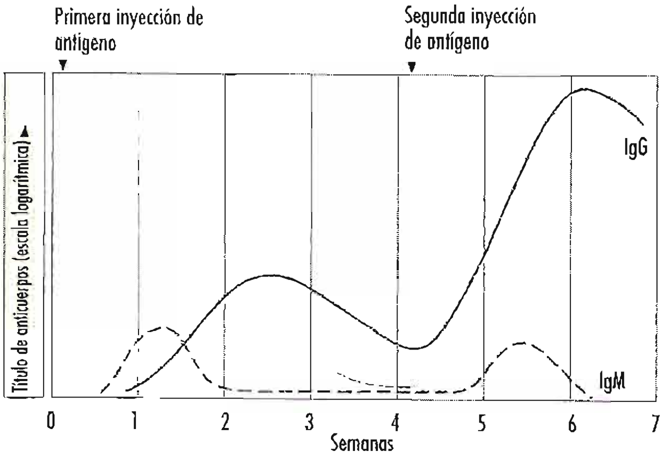


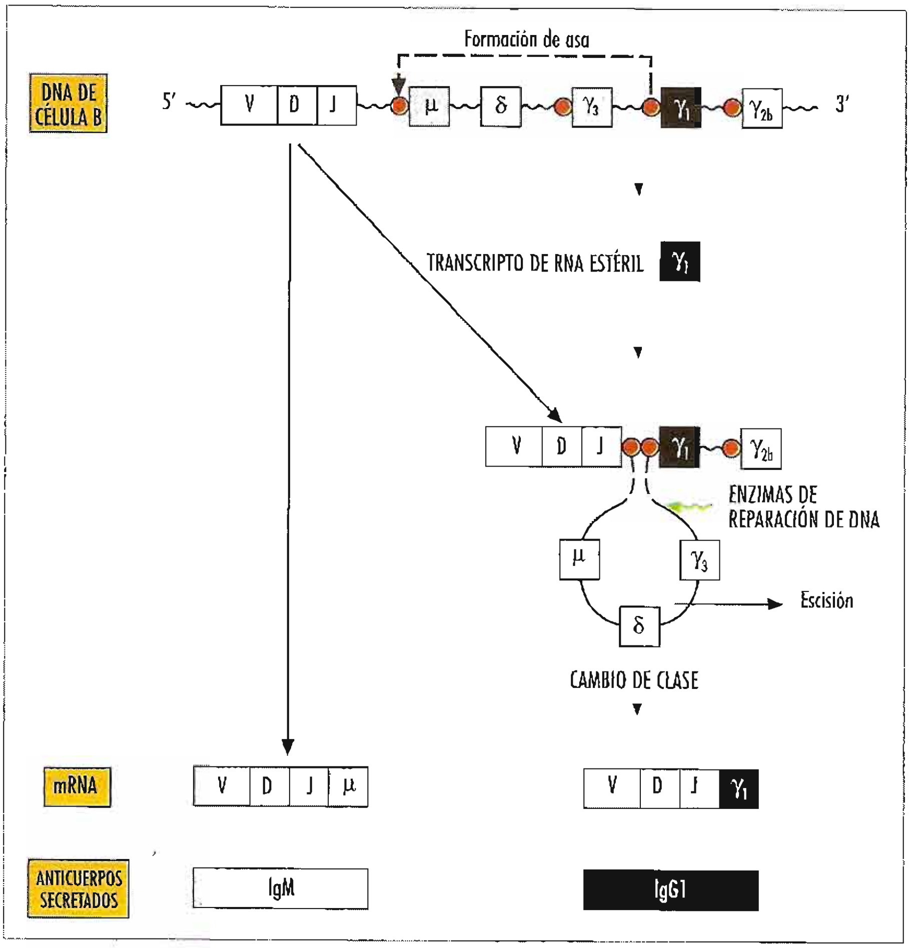
Fig. 10-16. Síntesis de las clases de anticuerpos IgM e IgG en las respuestas primaria y secundaria frente al antígeno.

riles de línea germinativa que se inician en el exón 5′ I (de iniciación) de la región de cambio para la clase de anticuerpos en la cual se producirá el cambio y terminan en el sitio 3′ de poliadenilación del gen C_H relevante (fig. 10-17). Los transcriptos no se traducen, sino, en cambio, se mantienen asociados con el templado de DNA, y forman híbridos RNA-DNA dentro de las regiones S del DNA que podrían actuar como blancos para enzimas involucradas en el proceso de recombinación. Bajo la influencia de la recombinasa, un segmento del gen *VDJ* dado se transfiere desde $\mu\delta$ al nuevo gen de región constante (fig. 10-17), y de ese modo produce anticuerpos de la misma especificidad pero de clase diferente.

Las células B con cambio de clase están sometidas a altas tasas de mutación después de la respuesta inicial

El lector sin dudas recordará que esta idea se planteó en el capítulo 4, cuando analizamos la generación de diversidad, y que el centro germinativo se identificó como el sitio de una mutagénesis intensa. La tasa de mutación normal de la región *V* es del orden de 10^{-5}/pares de bases/división celular, pero esto se eleva hasta 10^{-3}/pares de bases/generación en las células B, como resultado de la estimulación antigénica. Este proceso se muestra en la figura 10-18 que grafica la acumulación de mutaciones somá-

Fig. 10-17. El cambio de clase para producir anticuerpos de especificidad idéntica pero isotipo diferente de inmunoglobulina (en este ejemplo, de IgM a IgG1) se logra mediante un proceso de recombinación que utiliza las secuencias de cambio especializadas (●) y conduce a una pérdida del asa de DNA interpuesta (μ, δ y γ3). Cada secuencia de cambio es de 1-10 kilobases de longitud y comprende repeticiones ricas en guanosina de 20-100 pares de bases. Dado que la secuencia de cambio asociada con cada gen C_H tiene una secuencia única de nucleótidos, la recombinación no puede producirse en forma homóloga y, por lo tanto, es probable que dependa de la unión de extremos no homólogos. En este proceso están involucradas proteínas de reparación del DNA, entre las que se incluyen Ku70, Ku80 y la subunidad catalítica de la proteincinasa DNA-dependiente (DNA-PK$_{CS}$).



ticas en la estructura de anticuerpos V_H/V_κ inmunodominante durante la respuesta inmune a feniloxazolona. Con el tiempo y con estímulos sucesivos, se observa que la tasa de mutaciones crece en grado espectacular y, en el contexto de este análisis, está claro que las hipermutaciones dirigidas en forma estratégica que aparecen dentro de las asas hipervariables que determinan la complementariedad o adyacentes a ellas (fig. 10-19) pueden originar células que secretan anticuerpos que tienen una afinidad de combinación diferente a la de la célula madre original. De manera aleatoria, algunas células hijas mutadas tendrán mayor afinidad por el antígeno, algunas la misma o menor y otras tal vez ninguna (véase fig. 10-14). Asimismo, las mutaciones en las regiones del armazón pueden ser "silenciosas" o, cuando interrumpen el plegamiento de la proteína, dar origen a moléculas no funcionales. Es pertinente destacar que la proporción de células B del centro germinativo con mutaciones "silenciosas" es alta al comienzo de la respuesta inmune, pero cae en forma espectacular con el tiempo, lo que sugiere que a la diversificación temprana le sigue la expansión preferencial de clones que expresan mutaciones que mejoran sus posibilidades de reaccionar con el antígeno y ser estimulados por él.

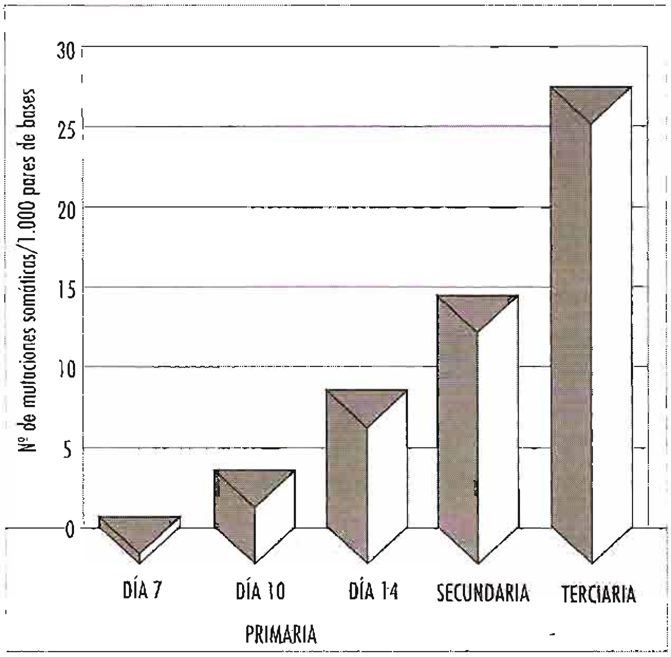


Fig. 10-18. **Mutaciones somáticas crecientes en los anticuerpos de la línea germinal inmunodominantes,** observadas en hibridomas aislados luego de la inmunización repetida con feniloxazolona. (Datos tomados de Berek C y Apel M. (1989) En Melchers F, et al. (eds.) *Progress in Immunology* 7, 99. Springer-Verlag, Berlín.)

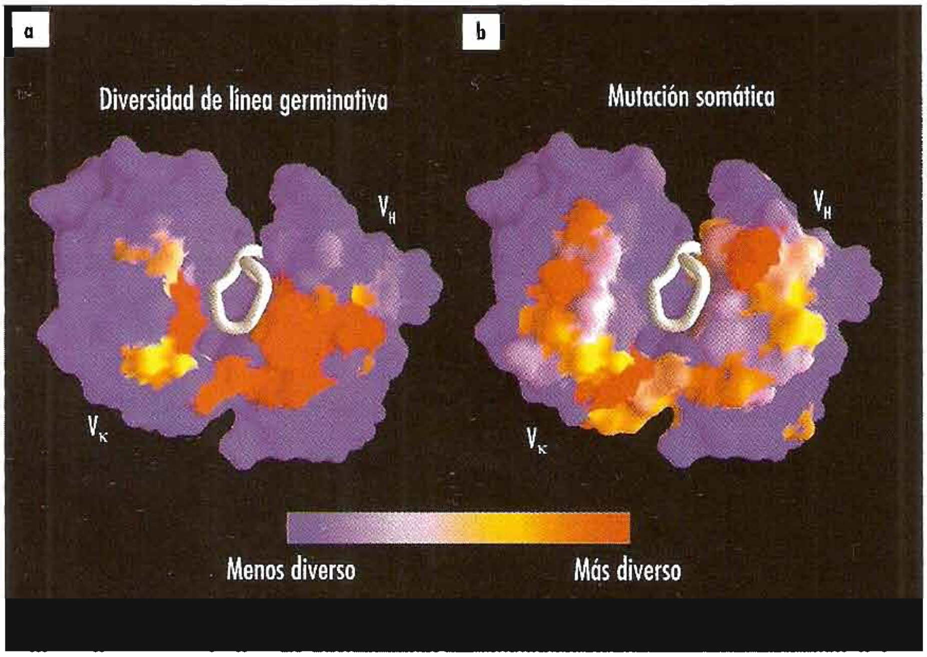


Fig. 10-19. **Una "representación visual del antígeno" de diversidad de secuencia en anticuerpos humanos.** Se ha graficado la diversidad de secuencia en una escala de azul (más conservada) a rojo (más diversa). En ambos dibujos el dominio V_H está a la derecha y el dominio V_κ a la izquierda. **a)** Diversidad de la línea germinal antes de que se focalice la hipermutación somática en el centro del sitio de unión del antígeno. **b)** La hipermutación somática propaga la diversidad a regiones en la periferia del sitio de unión, las cuales están altamente conservadas en el repertorio del gen *V* de la línea germinal. Por lo tanto, la hipermutación somática es complementaria de la diversidad de la línea germinal. El V_HCDR3, que se ubica en el centro del sitio de unión del antígeno, no fue incluido en este análisis y, por lo tanto, se muestra en gris como una estructura en asa. El extremo del V_κCDR3 (también excluido) se ubica en el centro del sitio de unión y no se ve en esta representación. (Reproducido con autorización de Tomlinson IM, et al. (1996) *Journal of Molecular Biology* 256, 813.)

FACTORES QUE AFECTAN LA AFINIDAD DE LOS ANTICUERPOS EN LA RESPUESTA INMUNE

El efecto de la dosis de antígeno

En esencia, la fuerza de fijación de un antígeno por el receptor de superficie de una célula B estará determinada por la constante de afinidad de la reacción:

$$\mathrm{Ag} + \mathrm{Ac}\ (\text{superficie}) \rightleftharpoons \mathrm{AgAc}$$

y los reactivos se comportarán según la ley de acción de masas (véase pág. 96).

Se puede suponer que, cuando una cantidad suficiente de moléculas de antígeno se une a los receptores sobre la superficie celular y se procesa para la presentación a las células T, el linfocito será estimulado para evolucionar en un clon productor de anticuerpos. Cuando sólo se presentan pequeñas cantidades de antígeno, sólo los linfocitos con receptores de alta afinidad podrán fijar suficiente antígeno para que se produzca la estimulación y sus células hijas, por supuesto, también generarán anticuerpos de alta afinidad. La consideración de la ecuación de equilibrio antígeno-anticuerpo mostrará que, a medida que aumenta la concentración de antígeno, incluso los anticuerpos con una afinidad relativamente baja fijarán más antígeno; por lo tanto, con altas dosis de antígeno, los linfocitos con receptores de menor afinidad también serán estimulados y, como puede observarse a partir de la figura 10-20, son más abundantes que los que presentan receptores de alta afinidad. Más aun, existe una fuerte posibilidad de que las células con la máxima afinidad fijen tanto antígeno como para tornarse tolerantes (véase pág. 271). Por lo tanto, en resumen, las bajas cantidades de antígeno producen anticuerpos de alta afinidad, mientras que las concentraciones altas de antígeno dan origen a un antisuero con afinidad baja a moderada.

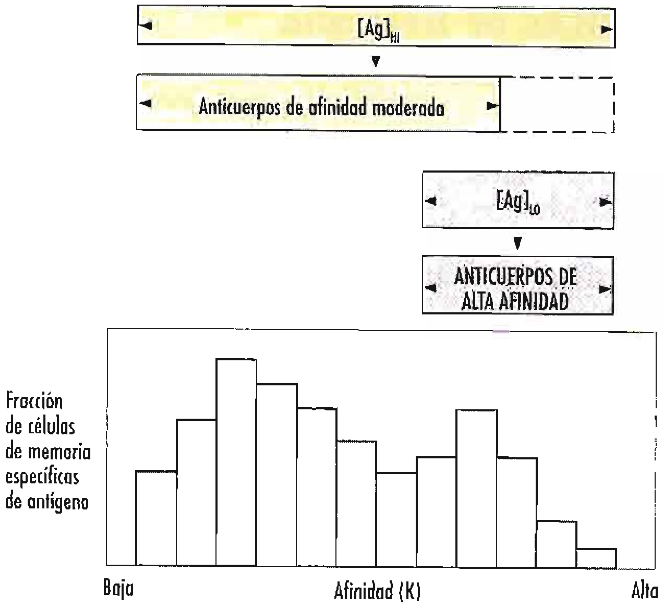


Fig. 10-20. Relación de la concentración de antígenos con la afinidad de los anticuerpos producidos. Las bajas concentraciones de antígeno ($[\mathrm{Ag}]_{\mathrm{LO}}$) se unen a distintas células de memoria de alta afinidad y permiten su estimulación; los anticuerpos resultantes son de alta afinidad. Las dosis altas de antígeno ($[\mathrm{Ag}]_{\mathrm{HI}}$) pueden unirse lo suficiente con células de baja afinidad y permitir así su estimulación, mientras que las células de máxima afinidad pueden unirse a un exceso de antígeno y ser tolerantes (línea de rayas); el antisuero resultante tendrá una población de anticuerpos de afinidad baja a moderada.

Maduración de la afinidad

Además de ser más enérgicas y más intensas, las respuestas secundarias tienden a ser de mayor afinidad. Es probable que haya dos razones principales para esta maduración de la afinidad después de la estimulación primaria. Primero, una vez iniciada la respuesta primaria y una vez que declina la concentración del antígeno hasta niveles bajos, sólo las células con afinidad mayor se unirán de manera exitosa al antígeno suficiente como para mantener la proliferación. Segundo, en esta etapa las células mutan de manera desquiciada en los centros germinativos, y cualquier mutante con una afinidad accidental mayor se unirá bien al antígeno sobre las células dendríticas foliculares y será seleccionada en forma positiva por su expansión clonal persistente. La modificación de la especificidad de anticuerpos por mutaciones puntuales somáticas permite la diversificación gradual sobre la cual puede actuar la selección positiva para la afinidad durante la expansión clonal.

Vale la pena destacar que las respuestas a los antígenos timoindependientes, que tienen una memoria poco desarrollada con mutaciones muy infrecuentes, no muestran este fenómeno de maduración de afinidad. En términos globales, la capacidad de Th para facilitar las respuestas a antígenos activadores en forma no policlonal, no poliméricos, para inducir proliferación clonal expansiva, para lograr el cambio de clase y, por último, para afinar las respuestas hasta mayor afinidad brindó respuestas inmunes más grandes, mejores y más flexibles.

CÉLULAS DE MEMORIA

Los anticuerpos codificados por genes de la línea germinal no mutados repesentan una forma de memoria evolutiva, en el sentido que tienden a incluir especificidades para los patógenos comunes que aparecen en la denominada fracción de "anticuerpos naturales" del suero. La memoria adquirida durante la respuesta inmune adaptativa requiere el contacto con antígeno y la expansión de células de memoria específicas para el antígeno, como se observa por ejemplo en el aumento de 20 veces en los precursores de las células T citotóxicas después de la inmunización de hembras con el antígeno H-Y masculino.

La memoria de infecciones tempranas, como sarampión, es prolongada y surge preguntarse si las células de memoria tienen una vida de larga duración o están sometidas a una estimulación antigénica repetida por la persistencia del antígeno o por reinfección subclínica. En 1847 Fanum describió una epidemia de sarampión en las Islas Faroe en el año anterior, en la que casi toda la población sufrió la infección, salvo algunas personas ancianas que se habían infectado 65 años antes. Aunque esta prueba favorece la hipótesis de la vida media prolongada, la función de memoria de las células B transferidas a un receptor singénico irradiado se pierde dentro del mes, a menos que se administre antígeno o que el donante sea transgénico para el gen *bcl*-2 (recuerde que las señales en el centro germinativo que impiden la apoptosis de las células B centrocíticas también regulan en más la expresión de *bcl*-2). Se piensa que la memoria de las células B es un estado dinámico en el que la supervivencia de las células de memoria se mantiene por señales recurrentes desde las células dendríticas foliculares en los centros germinativos, el único repositor prolongado del antígeno.

Sin embargo, la evidencia reciente sugiere con firmeza que las *células T* de memoria pueden persistir en ausencia de antígeno. Las células T aisladas de ratones varios meses después de que recibieran inmunización por virus de la coriomeningitis linfocítica (LCM) se transfirieron a dos grupos de ratones con modificaciones genéticas que carecían de células T endógenas; además, uno de los grupos carecía de expresión del CMH clase I. Las células T se mantuvieron en estos ratones durante 10 meses y luego se analizaron in vitro. Los linfocitos T citotóxicos CD8$^+$ funcionales específicos del virus aún se encontraban presentes en ambos grupos de ratones y en cantidades similares, aun cuando en los provenientes de los ratones clase I$^-$ no pudo haber presentación del antígeno a su TCR. En realidad, estas células T de memoria sufren proliferación independiente del antígeno y del CMH in vivo, su cantidad es controlada, al menos en parte, por un equilibrio entre las señales inductoras de proliferación de la IL-15 y las señales inductoras de muerte celular de la IL-2 liberada en el medio ambiente local, y ambas citocinas se unen a la cadena β de la IL-2R (véase la fig. 10-2). Otros hallazgos recientes indican que la memoria de las células T helper tampoco requiere la presencia continua del antígeno o CMH y, al menos en algunos casos, la memoria de Th se mantiene en ausencia de división celular.

Sin embargo, no debemos perder de vista que, aunque en estos experimentos en animales transgénicos y por noqueo se demuestra con claridad que la memoria inmunitaria *puede* mantenerse en ausencia de antígeno; por lo general el antígeno persiste como complejos sobre las células dendríticas foliculares. Por lo tanto, es posible que las células presentadoras de antígeno dentro del centro germinativo capturen y procesen este antígeno en complejos y luego lo presenten a las células Tde memoria. Cierta evidencia, también reciente (sí, ¡se trata de un área muy cambiante de la inmunología!), sugiere que es un tipo de célula dendrítica y no las células B del centro germinativo, la que puede cumplir esta función.

La población de células de memoria no es simplemente una expansión de las células vírgenes correspondientes

En general, las células de memoria se estimulan con más facilidad mediante una dosis dada de antígeno, porque tienen una afinidad mayor. En el caso de las células B, hemos estado satisfechos por la evidencia que relaciona la mutación y la selección antigénica con la creación de células de memoria con alta afinidad dentro del centro germinativo de los folículos secundarios de los ganglios linfáticos. Los receptores para el antígeno sobre las células T de memoria también tienen mayor afinidad pero, dado que no sufren una mutación somática importante durante la respuesta a la estimulación, parecería que las células con **receptores preexistentes de afinidad relativamente mayor en la población de células vírgenes (no estimuladas) proliferan de manera selectiva a través de la unión preferencial al antígeno.**

Intuitivamente no se esperaría mejorar la afinidad en la misma medida en que la hipermutación somática puede lograrlo para las células B; no obstante, las células T de memoria aumentan su avidez de unión para la célula presentadora de antígenos

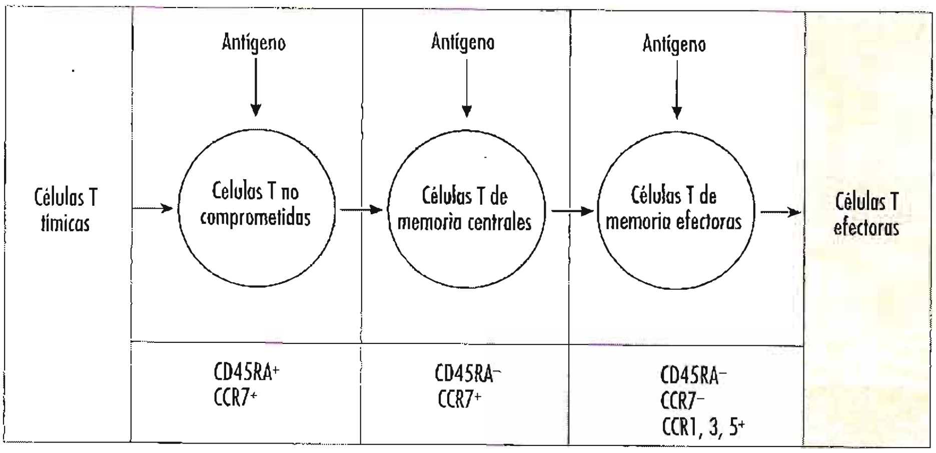

Antígeno
Antígeno
Antígeno
Células T tímicas
Celulas T no comprometidas
Células T de memoria centrales
Células T de memoria efectoras
Células T efectoras
CD45RA+ CCR7+
CD45RA– CCR7+
CD45RA– CCR7– CCR1, 3, 5+

Fig. 10-21. Células T de memoria centrales y efectoras. Las células T vírgenes tienen la variante de empalme CD45RA de la molécula CD45 y son atraídas desde el timo al tejido linfoide secundario por la influencia de quimiocinas de unión a CCR7, como CCL19 (MIP-3β) y CCL21 (6Ccina/SLC). Después del encuentro con el antígeno, algunas de estas células se vuelven efectoras de la respuesta inmune primaria, mientras que otras se diferencian en células T de memoria centrales que retienen el receptor de la quimiocina CCR7 pero pierden la expresión de CD45RA. El reencuentro ulterior con el antígeno empuja a estas células, al compartimiento de memoria efectora con reemplazo de CCR7 por otros receptores para quimiocinas, como CCR1, CCR3 y CCR5. Esto cambia las características de residencia de estas células, que podrán reubicarse como células T secretoras de citocinas o citotóxicas en los sitios inflamatorios, bajo la influencia de algunas quimiocinas como CCL3 (MIP-1α), CCL4 (MIP-1β) y CCL5 (RANTES) (véase cuadro 10-3). Obsérvese que mientras la activación y posterior diferenciación de estas células depende del antígeno, se cree que tanto las células T de memoria centrales tienen una vida prolongada como las de memoria efectoras en ausencia del antígeno.

por medio de la mayor expresión de moléculas de adhesión accesorias, CD2, LFA-1, LFA-3 e ICAM-1. Dado que varias de estas moléculas también funcionan para aumentar la transducción de señales, la célula T de memoria se estimula con más facilidad que su equivalente celular virgen. En realidad, las células de memoria comienzan la división celular y secretan citocinas con más rapidez que las células vírgenes y hay algunas evidencias de que pueden secretar una gama más amplia de citocinas que las células vírgenes.

Un cambio fenotípico en la isoforma del antígeno común leucocitario CD45R, derivado del empalme diferencial, permite hacer cierta distinción entre las células vírgenes y las células de memoria. La expresión de CD45RA se utilizó como marcador de las células T vírgenes y la de CD45RO como un marcador de células de memoria capaces de responder a los antígenos de recuerdo. Sin embargo, la mayoría de las características asociadas con el subgrupo CD45RO son de hecho manifestaciones de **células activadas** y las células CD45RO pueden revertirse al fenotipo CD45RA. Las células de memoria, tal vez en ausencia de estimulación antigénica, pueden perder en consecuencia su estado activado y unirse a un pool en reposo. Otro marcador utilizado para diferenciar las células vírgenes de las células de memoria da un paso atrás en la escalera de CD y utiliza las diferencias en la expresión relativa de la molécula de adhesión CD44; las células T vírgenes parecen expresar niveles bajos de CD44 mientras que las células T de memoria expresan niveles elevados.

Lanzavecchia y col. propusieron que el receptor para quimiocinas CCR7 permite distinguir entre las células T CCR7+ de "memoria central" que se diferencian de las células T vírgenes y las células T CCR7- de "memoria efectora", que surgen con ulterioridad de las células T de memoria central (fig. 10-21). Ambas poblaciones tienen una vida prolongada. Las células con memoria central proporcionan un pool con expansión clonal de células programadas por el antígeno que pueden viajar hasta los órganos linfoides secundarios bajo la influencia de la quimiocina CCL21 (SLC) (véase cuadro 10-3) y, luego del reencuentro con el antígeno, pueden estimular a las células dendríticas, ayudar a las células B y generar células efectoras. Por el contrario, las células T de memoria efectora poseen receptores CCR1, CCR3 y CCR5 para quimiocinas proinflamatorias y constituyen células residentes en los tejidos que median reacciones inflamatorias o de citotoxicidad.

Las células B vírgenes pierden su IgM e IgD de superficie y cambian el isotipo del receptor al convertirse en células de memoria, y la expresión diferencial de estos marcadores de superficie facilitó en gran medida la separación de las células B y T en poblaciones vírgenes y de memoria para su mejor estudio. Las moléculas coestimuladoras B7.1 (CD80) y B7.2 (CD86) se regulan con rapidez en forma positiva sobre las células B de memoria y la potente capacidad de estas células para presentar el antígeno a las células T podría explicar bien la naturaleza enérgica y robusta de las respuestas secundarias. Un esquema similar al señalado en la figura 10-21 para las células T también puede aplicarse para el compartimiento de linfocitos B, con una población inicial de células de memoria que posee el marcador B220 que evolucionan a células B de memoria $B220^-$ que luego pasan a generar las células efectoras secretoras de anticuerpos.

RESUMEN

La activación de las células T es regulada en más por una sucesión de genes

- Dentro de los 15-30 minutos, se expresan los genes para los factores de transcripción vinculados en la progresión de G0 a G1 y en el control de IL-2.
- Hasta 14 horas se expresan las citocinas y sus receptores.
- Más tarde, se regulan en más distintos genes relacionados con la división y la adhesión celulares.

Las citocinas actúan como mensajeros intercelulares

- Las citocinas actúan en forma transitoria y, por lo general, son de corto alcance, aunque la IL-1 y la IL-6 circulantes pueden mediar la liberación de proteínas de fase aguda desde el hígado.
- Actúan por medio de receptores de superficie que pertenecen a seis familias estructurales.
- La dimerización de las subunidades individuales de la principal familia de receptores (hematopoyetina) inducida por las citocinas activa los proteína tirosinacinasas, entre las que se incluyen JAK, y conduce a la fosforilación y activación de los factores de transcripción STAT.
- Las citocinas son pleiotrópicas, es decir que tienen variados efectos en las áreas generales de: i) control del crecimiento linfocítico, ii) activación de mecanismos inmunes innatos (que incluyen inflamación) y iii) control de la hematopoyesis de la médula ósea (véase fig. 10-4).
- Las citocinas pueden actuar de manera secuencial, a través de una citocina que induce la producción de otra o por transmodulación del receptor para otra citocina; también pueden hacerlo en forma sinérgica o antagónica.
- Sus papeles in vivo pueden evaluarse por noqueo genético, transfección o inhibición por anticuerpos específicos.

Los diferentes subpoblaciones de células T pueden elaborar distintas citocinas

- A medida que la inmunización prosigue, las células Th tienden a evolucionar en dos subpoblaciones: las células Th1 vinculadas con los procesos inflamatorios, la activación de macrófagos y la sensiblidad retardada elaboran IL-2 e IL-3, IFNγ, TNF, linfotoxina y GM-CSF; las células Th2 ayudan a las células B a sintetizar anticuerpos y secretan IL-3, IL-4, IL-5, IL-6 e IL-13, TNF y GM-CSF. La IL-10 es secretada por las células Th2 en ratones, pero por las células Th1 y Th2 en los seres humanos.
- La interacción temprana del antígeno con los macrófagos o las células dendríticas que producen IL-12 o con distintas células que secretan IL-4 desvía las respuestas hacia Th1 o Th2, respectivamente.
- Puede haber otras subpoblaciones, entre las que se incluyen células reguladoras Th3 que secretan TGF-β (Tr1).
- También pueden distinguirse las poblaciones Tc1 (IFNγ) y Tc2 (IL-4).

Las células T activadas proliferan en respuesta a las citocinas

- IL-2 actúa como un factor de crecimiento autocrino para las células Th1 y paracrino para las células Th2 que regularon en más sus receptores para IL-2.
- Las citocinas actúan sobre células que expresan el receptor apropiado de citocina.

Efectores de las células T en la inmunidad mediada por células

- Las citocinas median las respuestas inflamatorias crónicas e inducen la expresión de CMH clase II en las células endoteliales, distintas células epiteliales y muchas líneas de células tumorales; así se facilitan las interacciones entre las células T y las no linfoideas.

- La expresión diferencial de receptores de quimiocinas permite el reclutamiento selectivo de neutrófilos, macrófagos, células dendríticas y células T y B.
- El TNF genera sinergia con IFNγ en las células killer.
- Las células T citotóxicas se generan contra células (p. ej., infectadas por virus) que tienen un péptido de origen intracelular asociado con el CMH de superficie clase I. Producen la muerte mediante gránulos líticos que contienen perforina, granzimas y TNF.
- La inflamación mediada por células T está fuertemente regulada en forma negativa por IL-4 e IL-10.

La proliferación de las respuestas de células B está mediada por citocinas

- La proliferación temprana está mediada por IL-4 que también ayuda en la síntesis de IgE.
- Las células productoras de IgA son impulsadas por TGFβ y la IL-5.
- La IL-4 más la IL-5 promueven la IgM y la IL-4, IL-5, IL-6 e IL-13 más IFNγ estimulan la síntesis de IgG.

Acontecimientos en el centro germinativo

- Hay expansión clonal, cambio de isotipo y mutación en los centroblastos de la zona oscura.
- Los centroblastos de las células B mueren por medio de apoptosis, a menos que sean rescatados por ciertas señales que regulan en más *bcl*-2. Éstas implican los enlaces cruzados con la Ig de superficie por complejos sobre las células dendríticas foliculares y la ocupación del receptor CD40 que impulsa a la célula hacia el compartimiento de memoria.
- La selección de mutantes por el antígeno guía el desarrollo de células B de alta afinidad.

La síntesis de anticuerpos

- El RNA para las regiones variable y constante se empalma antes de abandonar el núcleo.
- El empalme diferencial permite la coexpresión de IgM e IgD con regiones V idénticas sobre una sola célula y el cambio desde una IgM ligada a la membrana a una secretada.

El cambio de clase de IgG se produce en las células B individuales

- La IgM producida tempranamente en la respuesta cambia a IgG, sobre todo con los antígenos timodependientes. El cambio se encuentra en gran parte bajo control de las células T.
- Las respuestas de IgG, pero no de IgM, mejoran ante la exposición secundaria.

Afinidad de los anticuerpos durante la respuesta inmune

- Las dosis bajas de antígeno tienden a seleccionar células B de alta afinidad y por ende anticuerpos, dado que sólo éstos pueden rescatarse en el centro germinativo.
- Por las mismas razones, la afinidad madura a medida que disminuye la concentración de antígeno durante una respuesta inmune.

Células de memoria

- Las células T de memoria pueden mantenerse en ausencia del antígeno.
- Sin embargo, los complejos inmunes sobre la superficie de las células dendríticas foliculares en el centro germinativo proporcionan una fuente prolongada de antígeno.
- Las células de memoria tienen mayor afinidad que las células vírgenes, en el caso de las células B por medio de mutación somática y en el caso de las células T por medio de proliferación selectiva de células con receptores de mayor afinidad y mediante la expresión regulada en más de moléculas asociadas, como CD2 y LFA-1, que aumentan la avidez (afinidad funcional) por la célula presentadora de antígenos.
- Las células T de memoria activadas y vírgenes se distinguen por la expresión de isoformas de CD45, donde las primeras tienen el fenotipo CD45RO y las últimas CD45RA. Parece probable que una proporción de la población CD45RO revierta a un pool de CD45RA de células de memoria en reposo. Las células de memoria CD45RA$^-$ pueden dividirse en centrales CCR7$^+$ y efectoras CCR7$^-$.
- Los niveles elevados de expresión de CD44 también son característicos de las células T de memoria, y la expresión de bajo nivel se asocia con células T vírgenes.

Véanse preguntas de opciones múltiples en el sitio web correspondiente (www.roitt.com)

Mecanismos de control

www.el12cirujano.blogspot.com/

Introducción, 225
Los antígenos pueden interferir entre sí, 225
El complemento y los anticuerpos también participan, 226
Muerte celular inducida por activación, 226
Regulación de las células T, 229
  Células T helper, 229
  Supresión de las células T, 229
  Las células T efectoras son guiadas hacia el blanco apropiado por las moléculas de superficie del CMH, 232
Redes de idiotipos, 233
  Hipótesis de la red de Jerne, 233
  Evidencia de redes idiotípicas, 233
  Preocupación de las redes por lo propio, 234
  Regulación idiotípica de las respuestas inmunes, 235
  Manipulación de la respuesta inmune a través de idiotipos, 237
La influencia de los factores genéticos, 238
  Algunos genes afectan la capacidad de respuesta general, 238
  Los genes de receptores antigénicos están relacionados con la respuesta inmune, 238
  La respuesta inmune puede ser influida por el CMH, 238
Redes inmunoneuroendocrinas reguladoras, 241
  Un circuito de retroalimentación neuroendocrina que afecta las respuestas inmunes, 242
  Las hormonas sexuales entran en escena, 243
  "Psicoinmunología", 243
Efectos de la dieta, el ejercicio, el traumatismo y la edad sobre la inmunidad, 244
  La desnutrición disminuye la eficacia de la respuesta inmune, 244
  Otros factores, 245
Resumen, 246
Lecturas adicionales, 248

INTRODUCCIÓN

La respuesta inmune adquirida evolucionó para entrar en acción al tomar contacto con un agente infeccioso. Las células con especificidad antigénica apropiada a menudo se expanden para formar una proporción considerable de los linfocitos en los tejido linfoides locales; los efectores eliminan el antígeno y entonces la respuesta se atenúa y deja lugar a la reacción contra otras infecciones. Deben actuar mecanismos de retroalimentación para limitar la respuesta; de otro modo, después de la estimulación antigénica, nos veríamos abrumados por la respuesta de clones de células T y de células formadoras de anticuerpos y sus productos. Es obvio que un estado así dista de ser beneficioso, como puede observarse con claridad en el mieloma múltiple, en el que se pierde el control sobre la proliferación de los linfocitos. Tiene sentido que el **antígeno sea un factor regulador importante** y que las respuestas de los linfocitos sean inducidas por la presencia de antígeno, cuya intensidad disminuye a medida que se reduce la concentración del antígeno (fig. 11-1). Hay muchas evidencias que sustentan este punto de vista. Los antígenos pueden estimular la formación de linfocitos específicos in vitro. La eliminación in vivo del antígeno, mediante la inyección de un exceso de anticuerpos durante la evolución de una respuesta inmune, conduce a una disminución espectacular de la síntesis de anticuerpos y de la cantidad de células secretoras de los mismos.

LOS ANTÍGENOS PUEDEN INTERFERIR ENTRE SÍ

La presencia de un antígeno determinado en una mezcla de antígenos puede disminuir en forma drástica la respuesta inmune a los otros. Esto se da incluso en los epítopos dentro de una molécula dada; por ejemplo, la respuesta a los epítopos sobre el fragmento Fab de la IgG es mucho mayor cuando para la inmunización se utiliza el Fab en lugar de la IgG completa, debido a la naturaleza inhibitoria de la región Fc. Los factores que determinan la inmunodominancia son la frecuencia de precursores de las células B con receptores para diferentes epítopos sobre el antígeno, la afinidad relativa de estos receptores de antígeno por sus epítopos respectivos, el grado en el cual el anticuerpo de la membrana de superficie protege el epítopo de la proteólisis, luego de la internalización del complejo antígeno-anticuerpo, y el nivel de competición de los péptidos antigénicos procesados por la ranura del *c*omplejo *m*ayor de *h*istocompatibilidad (CMH). Hay una clara jerarquía de epítopos en relación con esta unión competitiva, basada en la accesibilidad diferencial a las proteasas a medida que la molécula se despliega, y en la presencia o ausencia de secuencias particulares de aminoácidos que facilitan la degradación para producir péptidos en gran abundancia y con una afinidad relativamente alta por el CMH (fig. 11-2). Así Sercarz concibe **epítopos dominantes**, que toman la mejor tajada de las ranuras disponibles del CMH; **epítopos subdominantes**, que son menos exitosos, y **epítopos crípticos**, que generan concen-

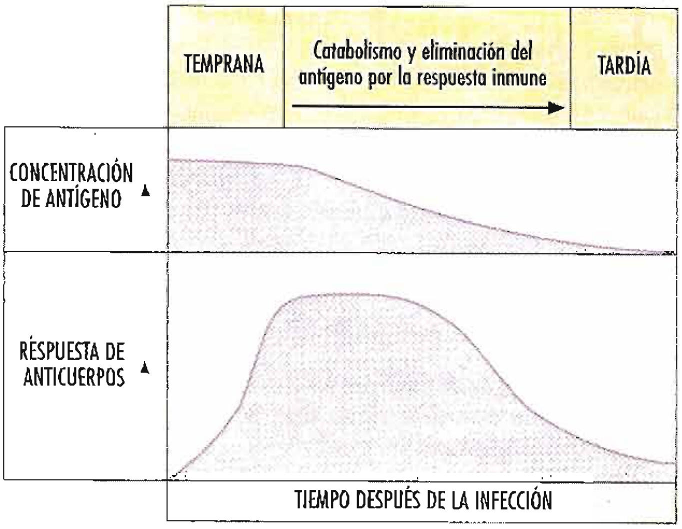


Fig. 11-1. El antígeno dirige la respuesta inmune. A medida que disminuye la concentración de antígeno debido al catabolismo y la eliminación por los anticuerpos, declina la intensidad de la respuesta inmune, pero se mantiene durante cierto tiempo en un nivel inferior por el antígeno atrapado en las células dendríticas foliculares del centro germinativo.

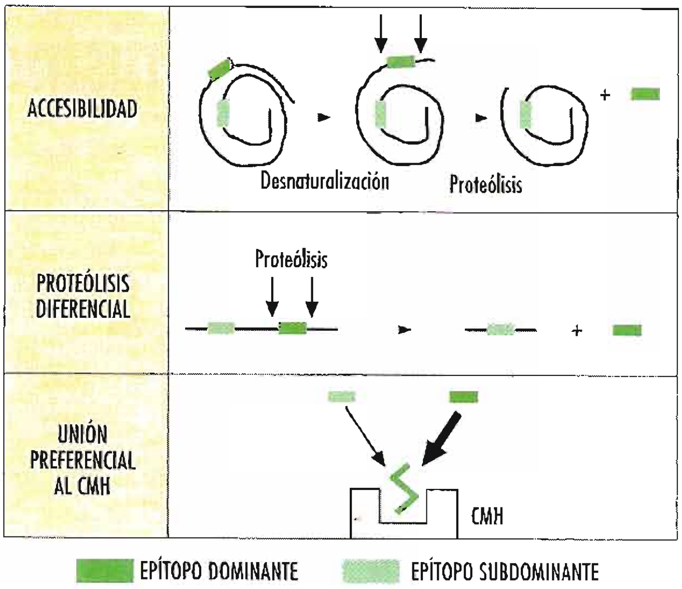


Fig. 11-2. Mecanismos de dominancia del epítopo en el nivel del CMH. El otro factor que puede influir en la dominancia es la disponibilidad de células T reactivas; si éstas fueron eliminadas, p. ej., por medio de la inducción de la tolerancia por autoantígenos reactivos cruzados, un péptido que puede haber dominado la ranura del CMH sería incapaz de provocar una respuesta inmune.

traciones bajísimas de péptido-CMH que son ignoradas por las células T vírgenes potencialmente reactivas.

Sin dudas, la posibilidad de que ciertos antígenos en una mezcla o los epítopos particulares de un antígeno dado puedan bloquear una respuesta inmune protectora deseada tiene obvias implicaciones en el diseño de las vacunas. Al contrario, la identificación de péptidos inhibidores con una afinidad predadora por las ranuras del CMH debería proporcionar agentes terapéuticos para sofocar las reacciones de hipersensibilidad indeseables.

EL COMPLEMENTO Y LOS ANTICUERPOS TAMBIÉN PARTICIPAN

Los mecanismos inmunes innatos casi siempre son los primeros en entrar a escena y la activación de la vía alternativa del complemeno conduce al depósito de C3d sobre el microorganismo. Cuando los antígenos revestidos por C3d son reconocidos por la célula B, el enlace cruzado del BCR y el receptor para el complemento CD21, con su molécula transductora de señales asociada CD19, aumenta la activación de las células B (fig. 11-3a). Por el contrario, el enlace cruzado del BCR con FcγRIIB1 (véase pág. 55) envía una señal negativa, al suprimir la fosforilación de CD19 por tirosina (fig. 11-3b). Así, la eliminación de los anticuerpos circulantes mediante plasmaféresis durante una respuesta progresiva conduce a un aumento de la síntesis, mientras que la inyección de anticuerpos IgG preformados acelera mucho la caída en la cantidad de células formadoras de anticuerpos (fig. 11-4) compatible con un control por retroalimentación sobre la síntesis global.

En completo contraste, la inyección de anticuerpos IgM aumenta la respuesta (fig. 11-4), presuntamente por enlace cruzado del antígeno a los receptores sIgM sin activación del receptor inhibidor Fcγ y tal vez también a través de la generación de C3d por la vía clásica de activación del complemento. Dado que los anticuerpos de este isotipo ya están presentes entre los anticuerpos naturales ampliamente reactivos o, en caso contrario, por cierto aparecerán en un estadio temprano después de la exposición al antígeno, sería útil reforzar la respuesta inicial.

MUERTE CELULAR INDUCIDA POR ACTIVACIÓN

Aunque la eliminación del antígeno del organismo por el sistema inmune claramente conduce a una

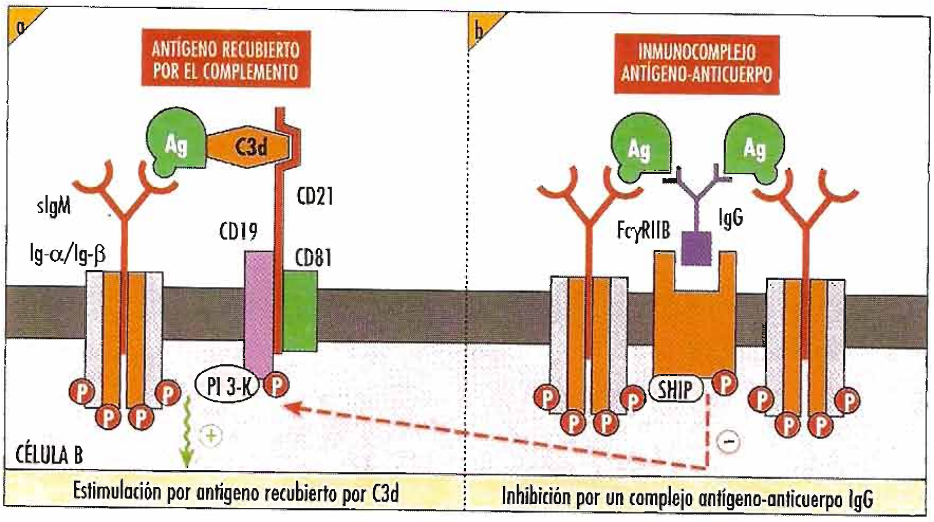

a
ANTÍGENO RECUBIERTO POR EL COMPLEMENTO
Ag
C3d
CD21
sIgM
CD19
Ig-α/Ig-β
CD81
PI 3-K
P
+
CÉLULA B
Estimulación por antígeno recubierto por C3d
b
INMUNOCOMPLEJO ANTÍGENO-ANTICUERPO
Ag
Ag
FcγRIIB
IgG
SHIP
−
Inhibición por un complejo antígeno-anticuerpo IgG

Fig. 11-3. Los enlaces cruzados del receptor para el antígeno de la IgM de superficie con el receptor del complemento CD21 estimulan las células B, y con el receptor FcγRIIB1 del Fcγ las inhiben. a) Luego de la activación del complemento, CD3 queda unido de forma covalente a la superficie microbiana. El receptor del complemento CD21 se une a C3d y señala mediante su molécula CD19 asociada. Las moléculas CD19, CD21 y CD81 (TAPA-1) forman el correceptor de células B y el enlace cruzado de este complejo con la IgM de superficie del BCR conduce a la fosforilación de tirosina de CD19 y la unión ulterior de la fosfatidilinositol 3-cinasa (PI3-K), lo que conduce a la activación de las células B. b) La molécula FcγRIIB1 posee un motivo de inhibición de inmunorreceptores citoplasmáticos basado en tirosina (ITIM) y, al unirse por enlaces cruzados con la Ig de membrana, se fosforila y se une a la inositol polifosfato 5'-fosfatasa SHIP. Esto suprime la fosforilación de CD19 e inhibe así la activación de las células B.

regulación negativa de la proliferación de los linfocitos, debido a la ausencia de una señal a través del receptor del antígeno, aun en presencia de éste, las señales provistas no conducen a la proliferación continua de células; en cambio, establecen una sucesión de acontecimientos que, a menos que las células estén protegidas de alguna forma, conduce a la *m*uerte *c*elular *i*nducida por *a*ctivación (MCIA) por apoptosis. Al parecer este tipo de muerte celular es una característica fundamental de las células CD4, que permite que estas células sean eliminadas del sistema luego de su proliferación. Después de la activación, las células T regulan en más los receptores de muerte y sus ligandos. Si los ligandos se mantienen asociados con la superficie celular, pueden activar la apoptosis en células adyacentes. Sin embargo, a menudo son liberados de la superficie celular por proteasas, lo que produce formas solubles que en algunos casos retienen la actividad; por ejemplo, la versión soluble del ligando inductor de la apoptosis relacionado con TNF (TRAIL) retiene la capacidad para señalar a través del receptor TRAIL-R1. Esos ligandos solubles pueden mediar potencialmente la muerte celular paracrina o autocrina. Los receptores de muerte son miembros de la familia de receptores del factor de necrosis tumoral (TNF-R); entre ellos se incluyen TNFRI, CD95 (Fas), TRAMP (proteína mediadora de apoptosis del receptor TNF), el antes

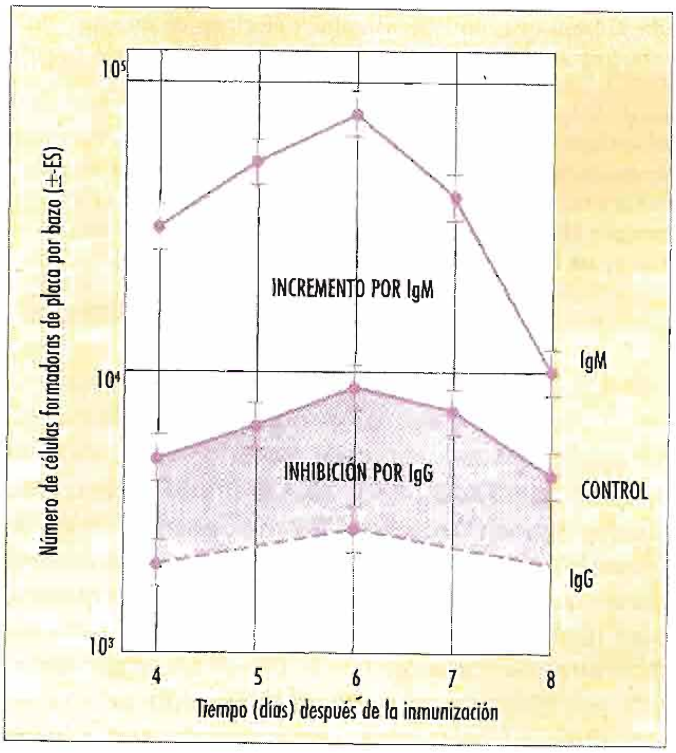


Fig. 11-4. Evolución temporal del incremento de la respuesta de anticuerpos contra glóbulos rojos de carnero (GRC) debido a la inyección de IgM preformada, y de la supresión por anticuerpos IgG preformados. Los ratones recibieron IgM monoclonal anti-GRC, IgG anti-GRC o medio sólo por vía intravenosa 2 horas antes de la inmunización con 10^5 GRC. (Datos proporcionados por J. Reiter, P. Hutchings, P. Lydyard y A. Cooke.)

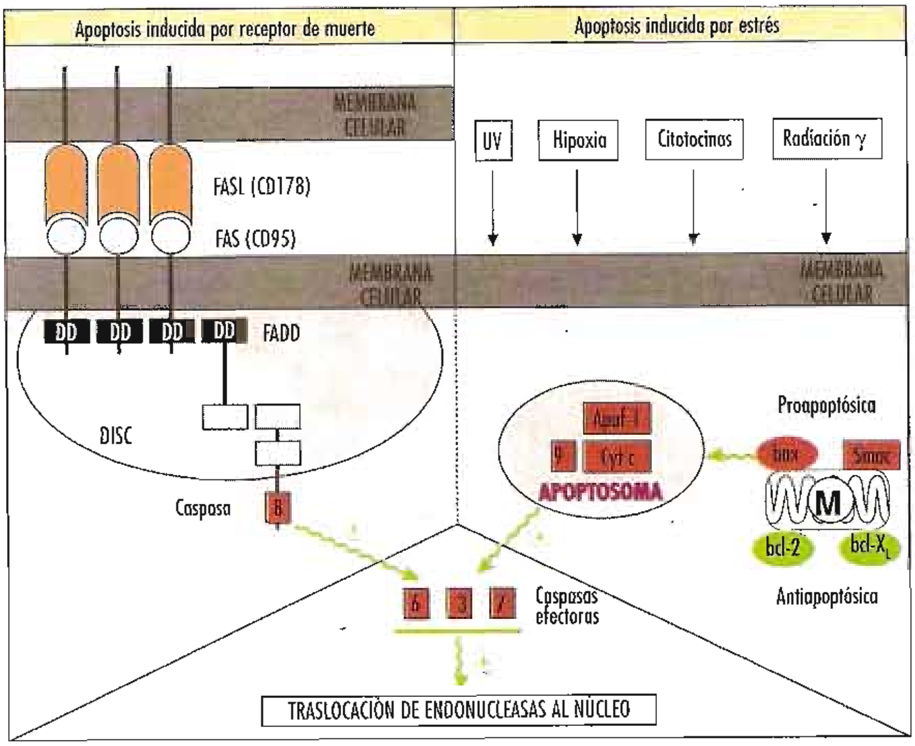


Fig. 11-5. Muerte celular inducida por activación. La inducción de la apoptosis basada en el receptor comprende la trimerización de miembros de la familia TNF-R (p. ej., Fas) por ligandos trimerizados (p. ej., ligando Fas). Esto reúne los dominios de muerte (DD) citoplasmáticos que pueden reclutar algunas moléculas adaptadoras que contienen dominios efectores de muerte (DED) para formar el complejo de señalización inductor de muerte (DISC). Los diferentes receptores utilizan distintas combinaciones de adaptadores que contienen DED; Fas utiliza FADD (dominio de muerte con proteína asociada con Fas). El DISC induce el clivaje de la procaspasa 8 inactiva en caspasa 8 activa, con ulterior activación de las caspasas efectoras corriente abajo. Este proceso por último conduce a la liberación de la endonucleasa conocida como DNAsa activada por caspasa (CAD) de una proteína limitante (inhibidor de CAD; ICAD) en el citoplasma, con ulterior traslocación de la endonucleasa al núcleo. Una segunda vía de inducción de apoptosis, a menudo activada por estrés celular, comprende algunas proteínas asociadas con mitocondrias que incluyen citocromo *c*, Smac/DIABLO y el miembro de la familia bcl-2 bax. La activación de la caspasa 9 es el acontecimiento clave en esta vía y requiere la asociación de la caspasa con algunas otras proteínas que incluyen el cofactor Apaf-1; el complejo formado incorpora citocromo *c* y se denomina apoptosoma. La caspasa 9 activada cliva entonces la procaspasa 3. Aunque en la figura se muestra cómo el receptor de muerte y las vías mitocondriales se separan inicialmente, hay cierto entrecruzamiento entre ellos. Así, la caspasa 8 puede clivar el miembro de la familia bcl-2 bid (no se muestra), un proceso que promueve la liberación del citocromo c de las mitocondrias. Otros miembros de la familia bcl-2, como el bcl-2 en sí y bcl-X$_L$, inhiben la apoptosis, tal vez al impedir la liberación de moléculas proapoptósicas de las mitocondrias. M, mitocondria.

mencionado TRAIL-1, el TRAIL-2 y el receptor de muerte (death receptor-DR) 6. La inducción de apoptosis a través de estos receptores comprende el clivaje de la cisteína proteasa inactiva procaspasa 8, para liberar la caspasa 8 activa. Por último, esta vía de activación converge con la vía de apoptosis inducida por el estrés celular y ambas conducen a la activación de las caspasas efectoras corriente abajo (fig. 11-5). Además de los receptores de muerte también hay algunos "receptores de degradación", que se unen a los ligandos potencialmente inductores de apoptosis pero no señalan.

Cuando al inicio las células T son activadas por péptido-CMH son resistentes a la apoptosis, pero se tornan cada vez más sensibles. Se sabe que algunas moléculas protegen de la apoptosis; por ejemplo, bcl-2 y bcl-X$_L$, que parecen actuar como perros guardianes que impiden la liberación de proteínas proapoptóticas desde las mitocondrias. Sin embargo, de particular relevancia para la muerte celular inducida por activación mediada por receptores de muerte es la molécula FLIP (proteína inhibidora de FLICE, un nombre antiguo de la caspasa 8). FLIP tiene similitud estructural con la caspasa 8 y por lo tanto, por inhibición competitiva impide el reclutamiento de esta caspasa en el complejo de señalización inductor de muerte (*d*eath *i*nducing *s*ignaling complex-DISC) (fig. 11-5). Al parecer, el equilibrio entre los niveles de caspasa 8 y FLIP puede determinar el destino de la célula cuando el receptor de

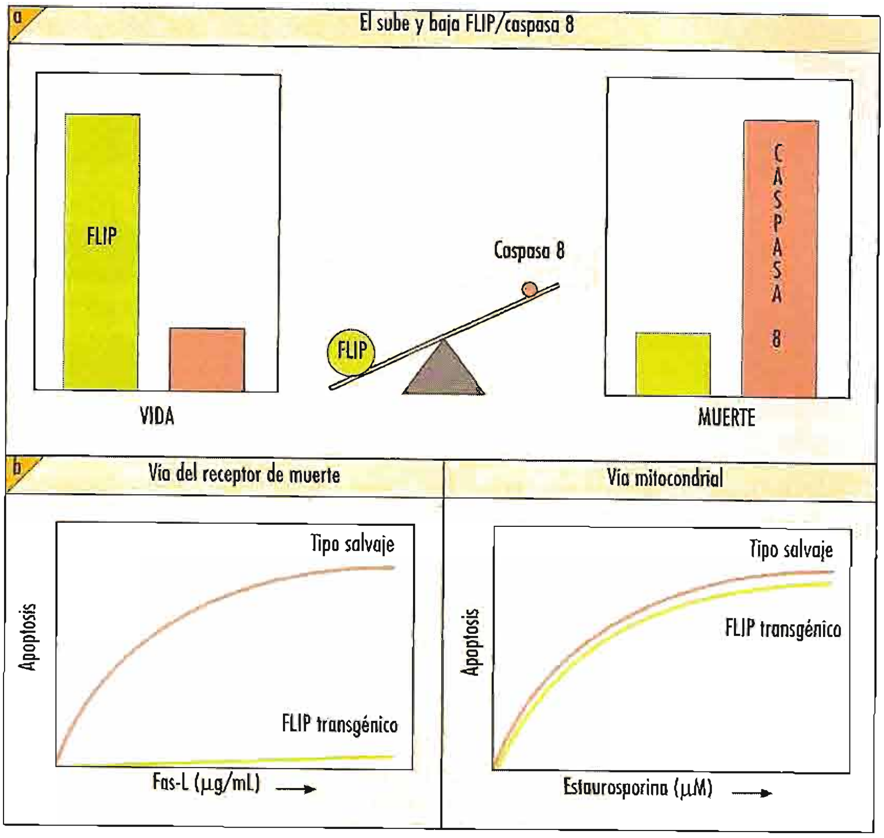


Fig. 11-6. Decisiones de vida y muerte.
a) Las cantidades relativas de FLIP antiapoptósica y caspasa 8 proapoptósica pueden determinar el destino de la célula.
b) En algunos experimentos que comprenden la sobreexpresión de FLIP en un modelo de ratón transgénico se mostró que esta proteína protege las células T de la muerte celular inducida por activación estimulada a través de la vía del receptor de muerte por Fas-ligando, pero no de la muerte celular desencadenada por la vía mitocondrial que utiliza el fármaco estaurosporina. (Basado en datos obtenidos por J. Tschopp y col.)

muerte es ocupado por su ligando, pero no afecta la apoptosis inducida por la vía mitocondrial activada por el estrés (fig. 11-6).

REGULACIÓN DE LAS CÉLULAS T

Células T helper

Hay abundantes evidencias que permiten sugerir que diversas poblaciones de células Th están especializadas en diferentes funciones de colaboración. En relación con la ayuda para la producción de anticuerpos, las líneas de células T derivadas de las placas de Peyer son mucho mejores para ayudar a las células B productoras de IgA provenientes de los precursores de las placas de Peyer que las líneas de células T esplénicas. La ayuda es para las células B precomprometidas para sintetizar IgA más que para la inducción del cambio de clase a IgA, dado que las células de las placas de Peyer no aumentan mucho la producción de IgA por las células B esplénicas. Se ha obtenido evidencia de la producción de un factor de unión de IgE de las células T que tienen el receptor Fcε, el cual aumenta la secreción de IgE por las células B; es intrigante el hecho de que una citocina de 13 kDa derivada de las células T, denominada *f*actor *i*nhibidor de la *g*lucosilación (GIF), inhiba la *N*-glucosilación del factor de unión de IgE que debido a ello se convierte en un supresor de la síntesis de IgE. También debe ser evidente, a partir del análisis previo de la muerte celular inducida por activación, que las células Th no se encontrarán para expandir de manera indefinida los tamaños de los clones de células B y Tc.

Supresión de las células T

Tal vez sea inevitable que la naturaleza, al haber desarrollado un grupo funcional de células T que promueven respuestas inmunes, también deba desarrollar un conjunto regulador cuya tarea sería modular las células T helper. La comunidad inmunológica prestó por primera vez seria atención a la supresión de las células T por un fenómeno, denominado de modo pintoresco por su descubridor, "tolerancia infecciosa". Causó mucha sorpresa demostrar que, si se convertían ratones en no reactivos, mediante la inyección de una dosis alta de *g*lóbulos *r*ojos de *c*arnero (GRC), eritrocitos de oveja, sus células T suprimían la formación de anticuerpos específicos en los receptores normales a los cuales habían sido transferidos (fig. 11-7). Es posible que el lector no aprecie por qué este resultado fue completamente sorprendente, pero en ese momento la tolerancia inducida por antígenos era considerada en esencia un

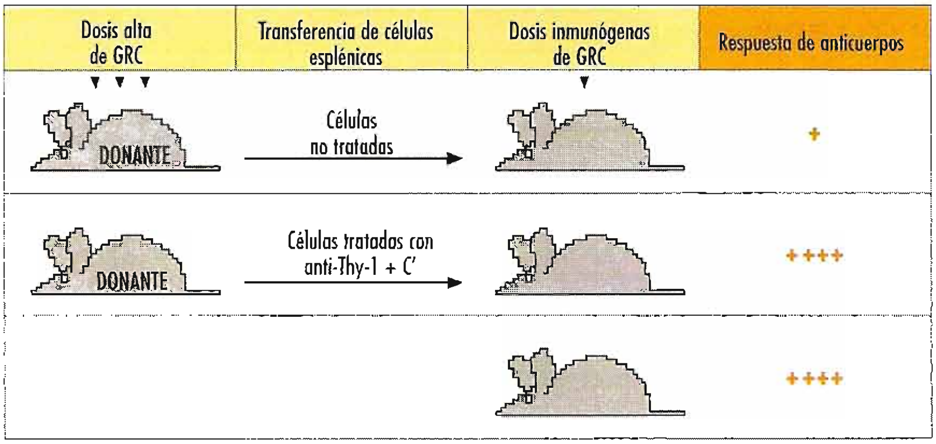


Fig. 11-7. Demostración de células T supresoras. Un ratón de una cepa apropiada inmunizado con una dosis inmunogénica de glóbulos rojos de carnero (GRC) elabora una respuesta intensa de anticuerpos. Sin embargo, cuando se transfieren inicialmente al animal singeneico células de bazo de un donante de la misma cepa inyectado con anterioridad con una dosis alta de antígeno, ellas deprimen la respuesta de anticuerpos a una dosis inmunógena del antígeno en condiciones normales. El efecto se pierde si las células esplénicas se tratan primero con un antisuero específico para las células T (anti-Thy-1) más complemento, lo que muestra que los supresores son células T. (Tomado de Gershon R.K. y Kondo K. [1971] *Immunology* 21, 903.)

fenómeno negativo, que comprendía la depleción o el silenciamiento de clones más que un estado de supresión activa. Con el correr de los años se demostró que la supresión por las células T modula distintas respuestas humorales y celulares; en este último grupo se incluyen hipersensibilidad de tipo retardado, células T citotóxicas y proliferación de células T específicas para el antígeno. Sin embargo, la existencia de células T supresoras profesionales aplicadas es una cuestión que ha generado mucho debate.

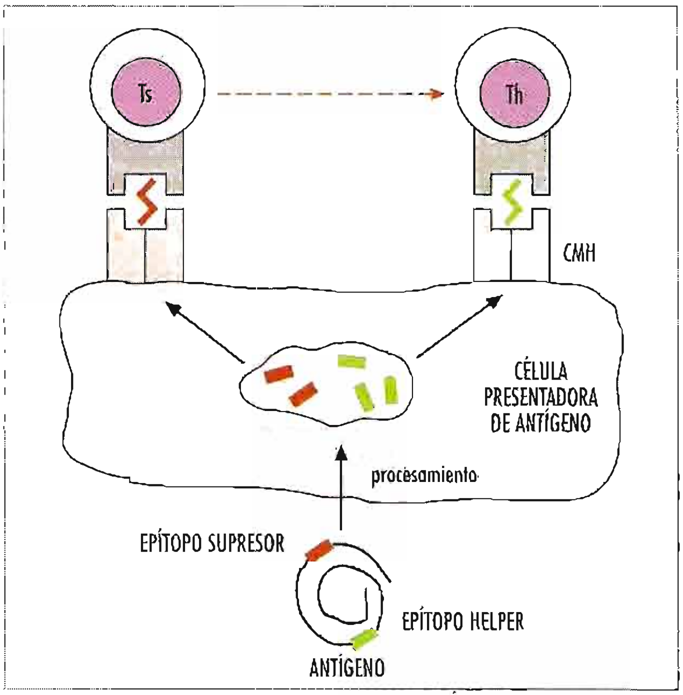


Fig. 11-8. Mecanismo posible para explicar la necesidad de una vinculación física entre epítopos supresores y helper. Las células helper y supresoras putativas pueden interactuar al unirse muy próximas sobre la superficie de una célula presentadora de antígeno, que procesa al antígeno y muestra los diferentes epítopos sobre moléculas separadas del CMH en su superficie.

Los epítopos supresores y helper pueden ser distintos

El análisis detallado de las respuestas murinas frente a antígenos, como la lisozima de la clara de huevo de gallina, revela que ciertos determinantes pueden evocar respuestas supresoras muy intensas en lugar de respuestas de células T helper, lo que depende de la cepa de ratón así como de que las células T supresoras dirigidas contra un determinante pueden inactivar las respuestas de células helper y de anticuerpos contra otros determinantes en la misma molécula. Por lo tanto, los ratones de haplotipo $H\text{-}2^b$ responden poco a la lisozima, porque desarrollan supresión dominante; sin embargo, si se eliminan los tres aminoácidos N-terminales del antígeno, estos ratones generan una respuesta espléndida, que muestra que la supresión por las células T dirigida contra el determinante asociado con la región N-terminal inactiva la respuesta contra los determinantes restantes sobre el antígeno. Se han obtenido resultados similares en varios otros sistemas. Esto conduce a pensar que el antígeno propiamente dicho actúa como una forma de puente para permitir la comunicación entre la célula T supresora y las células que reaccionan contra los otros determinantes, como podría ocurrir si estas células se unieran a una célula presentadora de antígenos que expresa sobre su superficie varios determinantes procesados diferentes del mismo antígeno (fig. 11-8).

Características de la supresión

¿Qué sucede con los efectores de la supresión? En algunos sistemas experimentales las células que median las supresión son mucho más vulnerables que las helpers a la timectomía del adulto, la irradiación y la ciclofosfamida. Por ejemplo, la timectomía en el ratón adulto tiene poco efecto sobre la población Th, pero conduce a una disminución en las T supresoras, y así aumenta la respuesta frente a antígenos timoindependientes e impide la caída de los anticuerpos IgE frente a los haptenos acoplados con extractos de *Ascaris*, que tiene lugar en animales intactos.

Clásicamente las células T supresoras han sido descritas como CD8$^+$. Por ejemplo, la cepa de ratón B10.A (2R) tiene una baja respuesta inmune a la lactato deshidrogenasa β (LDHβ) asociada con la portación del gen *H-2Eβ* de haplotipo *k* y no *b*. Las células linfoides tomadas de estos animales después de la inmunización con LDHβ proliferan poco in vitro en presencia de antígeno; pero si se produce depleción de células CD8$^+$, las células CD4$^+$ restantes generan una respuesta mucho mayor. Al agregar de nuevo células CD8$^+$ se reinstaura la supresión activa. Las células T supresoras humanas también pueden pertenecer a la subpoblación CD8. Por lo tanto, las células CD8$^+$ CD28$^-$ pueden impedir que las células B presentadoras de antígeno regulen en más moléculas B7 coestimuladoras en respuesta a señales mediadas por CD40 provenientes del ligando CD40 sobre las células Th. Luego de la interacción con células T CD8, las CPA son capaces de inducir anergia en las células Th. Este efecto sobre B7 está mediado por la inhibición de la activación de NFκB en las CPA, acontecimiento necesario para la transcripción de las moléculas B7.1 (CD80) y B7.2 (CD86).

En época más reciente se ha comenzado a apreciar que las células CD4$^+$ reguladoras también pueden ser efectores importantes de supresión. En un modelo de enfermedad intestinal inflamatoria (EII) en el cual la transferencia de células T CD45RB^{high}CD4$^+$ de ratones donantes normales a ratones con inmunodeficiencia combinada grave (IDCS) conduce al desarrollo de EII, la enfermedad puede prevenirse si al mismo tiempo se transfieren células T reguladoras (Tr) CD45RB^{low}CD4$^+$. Este efecto inmunorregulador podría bloquearse mediante anticuerpos contra el receptor para IL-10 o TGFβ en ratones o contra IL-4 o TGFβ en ratas.

También se han identificado células supresoras del fenotipo CD4 dentro de la población menor que expresa la cadena α del receptor para IL-2 (CD25). Estas supresoras pueden anular las respuestas de las células T CD4$^+$ CD25$^-$ por un mecanismo dependiente del contacto celular e independiente de la citocina todavía no definido.

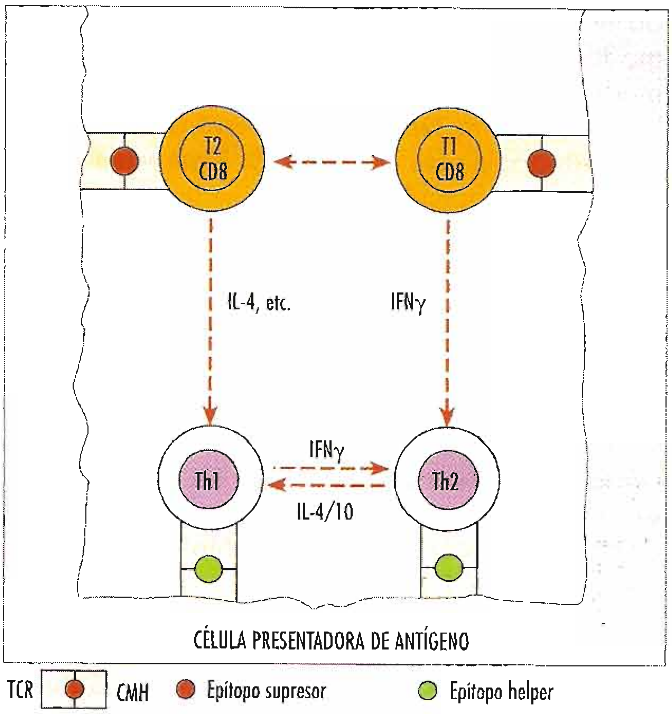


Fig. 11-9. Los antagonismos mutuos entre las superpoblaciones de células T vinculadas en forma indirecta por el antígeno procesado sobre una célula presentadora de antígeno conducen a modos distintos de supresión desde el punto de vista funcional. (Basado principalmente en Bloom B.R., Salgame P. y Diamond B. [1992] *Immunology Today* 13, 131.) No obstante, otro mecanismo puede probar ser importante. Al contrario de lo que sucede en el ratón, muchas otras especies de mamíferos pueden expresar CMH clase II sobre algunas de sus células T activadas; la presentación del péptido procesado por estas células puede inducir a las células citotóxicas CD4 positivas con potencial supresor. También debemos conocer más acerca de las circunstancias que conducen a la producción de TGFβ por las supresoras, dado que esta citosina inhibe la proliferación de células T.

La supresión es un fenómeno regulado

Analicemos con un poco más de profundidad algunos posibles mecanismos de supresión. Ya hemos considerado la idea de que las interacciones T-T ligadas al antígeno pueden producirse sobre la superficie de una célula presentadora de antígeno (fig. 11-8) y el concepto de que las subpoblaciones de CD8 T1 y T2 corren paralelo a la dicotomía Th1/Th2. Más aun, la evidencia para el antagonismo mutuo (supresión) entre las células Th1 y Th2 es realmente muy fuerte. Se podría postular la regulación en menos de las células Th1 por las células CD8 de tipo 2 productoras de IL-4 y la supresión de las células Th2 por las células CD8 del tipo 1 productoras de IFNγ, que interactúan sobre la superficie de una célula presentadora de antígenos (fig. 11-9). En este modelo, cuando la respuesta inmune se ha enclavado en un modo particular, por ejemplo, inmunidad celular mediada por Th1, otros tipos de respuesta, como la colaboración T-B, son restringidas por un efecto inhibidor de las citocinas. Si bien estas células median la supresión por T, no se las llamaría supresoras profesionales aplicadas dado que, en un sentido, sus poderes supresores son un subproducto de su función defensiva principal. Tal vez necesitemos de estas células T secretoras de citocinas para impedir que las células T se escapen de nuestro dominio mediante una proliferación excesiva, al igual que la IgG mantiene controladas las células B por retroalimentación. En efecto, existen pruebas abundantes para este mecanismo regulador donde las supresoras pueden ser inducidas por las células Th1.

La naturaleza de la célula presentadora de antígeno, sobre cuya superficie se cree que tienen lugar estas interacciones, puede influir en el tipo de células involucradas y en el resultado. Recuérdese que las células dendríticas, los macrófagos, las células B, las células T activadas e incluso las células epiteliales con clase II regulada positivamente pueden actuar como presentadoras de antígeno. Un hallazgo interesante es que la irradiación con luz UVB inactiva las células dendríticas y estimula la supresión por células T; la IL-2 y el IFNγ son reguladas en menos y aumenta la producción de IL-4.

Otras cuestiones que requieren soluciones son el mecanismo por el cual el antígeno en alta dosis induce supresión, el papel de las células T CD4 y CD8 citotóxicas en estos fenómenos y la medida en la cual contribuyen los supresores T específicos de idiotipo.

Es importante no perder el rastro de las denominadas "células supresoras naturales", como las inducidas por irradiación total de los ganglios linfáticos, además nos gustaría llamar la atención sobre una comunicación según la cual las células natural killer (NK) pueden inhibir la reacción linfocítica mixta unidireccional (véase pág. 402) o la respuesta primaria de IgM contra las células de carnero in vitro, al suprimir las células dendríticas que ya han captado el antígeno. Esto ofrece otra oportunidad para el control por retroalimentación, dado que el IFNγ la IL-2 producidos por Th pueden activar las células NK.

De modo global, la supresión puede estar mediada más a menudo por la secreción de citocinas como TGFβ, por la secreción de moléculas supresoras aún no definidas y por la inactivación de la función de las CPA. No cometamos errores, la supresión sigue siendo un área oscura y no es para el desprevenido, pero la luz al final del túnel nos atrae.

Las células T efectoras son guiadas hacia el blanco apropiado por las moléculas de superficie del CMH

No sólo las moléculas del CMH que tienen un péptido marcador revelador señalan la presencia de un precursor intracelular (véase pág. 232, cap. 5), también aseguran que la célula T establezca contacto con la superficie de la célula blanco apropiada.

Exploremos este punto observando el papel de la Tc en la infección viral. Cuando una célula es infectada inicialmente por un virus, hay una fase de eclipse durante la cual la maquinaria de la célula se adopta para la replicación viral y el único marcador del microbio completo es el péptido antigénico viral procesado sobre la superficie celular. En este estadio la destrucción de la célula por una célula T citotóxica impide la replicación viral. La célula T killer sabe que ha alcanzado su blanco cuando reconoce el péptido viral de superficie en asociación con moléculas clase I del CMH, que están presentes en casi todas las células del organismo. Así, la célula killer opera sobre la base de que el antígeno viral procesado es el código para la "**infección viral**" y las moléculas clase I son el código para la "**célula**" (véase fig. 5-26).

La situación es muy diferente con las bacterias y los protozoos intracelulares, que no atraviesan una fase de eclipse después de su fagocitosis por los macrófagos sino que se mantienen como entidades infecciosas; la lisis por células T citotóxicas simplemente libera los microorganismos, no los destruye. Se necesita una estrategia separada y, en este caso, el linfocito Th1 efector reconoce el macrófago infectado por la presencia de antígeno microbiano sobre la superficie en asociación con una molécula clase II, que entonces es un código para el "macrófago". Esta interacción desencadena la liberación de citocinas estimuladoras del macrófago, entre las cuales el IFNγ es dominante. En los macrófagos activados se desencadenan múltiples mecanismos microbicidas, entre los que se incluyen la formación de intermediarios reactivos de oxígeno y la síntesis de NO$^-$, en perjuicio de los parásitos intracelulares (véase pág. 297). Asimismo, en la cooperación T-B la **célula B** es reconocida a través de su molécula clase II asociada con el antígeno extraño, aunque en este caso se necesitan señales coestimuladoras a través de interacciones CD40L-CD40 para la activación. Las células T que median la **supresión** también utilizan moléculas del CMH, pero los mecanismos no son claros. En resumen, cada subpoblación de linfocitos T específicos para el antígeno debe comu-

Cuadro 11-1. *Guía de las subpoblaciones de células T a la célula blanco apropiada por las moléculas del CMH*

Función	Interacción celular	Marcador del CMH sobre la célula blanco
Programación de la célula T	T-célula dendrítica	II (+*B7/CD28)
T-helper (Th1)	T-macrófago	II (+ péptido)
T-helper (Th2)	T-B	II (+*CD40L/CD40)
T supresora	T-T	¿?
T citotóxica	T-célula blanco	I

*Moléculas coestimuladoras y su ligando.

nicarse con un tipo celular particular para desarrollar la respuesta inmune apropiada, y lo hace mediante el reconocimiento no sólo del antígeno extraño apropiado sino también de la molécula del CMH particular utilizada como marcador de esa célula (cuadro 11-1).

Algunos tipos de células inmunorreguladoras, como ciertas células T $\gamma\delta$, pueden reconocer moléculas de CMH no clásico inducidas por activación, como parece ser el caso del reconocimiento de las moléculas clase Ib T22 y T10 en el ratón, aunque aún no se ha dilucidado el papel preciso de esas células.

REDES DE IDIOTIPO

Hipótesis de la red de Jerne

Las asas hipervariables de la molécula de inmunoglobulina que forman el sitio de combinación con el antígeno tienen formas características individuales, que pueden reconocerse mediante los anticuerpos apropiados como determinantes idiotípicos (véase pág. 48). Hay cientos de miles de idiotipos diferentes en un individuo, si no más.

Jerne razonó en forma brillante que la gran diversidad de idiotipos reflejaría, en una medida considerable, la diversidad de formas antigénicas en el mundo externo. Así, dijo, si los linfocitos pueden reconocer una gama completa de determinantes antigénicos extraños, deben poder reconocer los idiotipos sobre los receptores antigénicos de otros linfocitos. Por lo tanto, formarían una gran red o serie de redes que dependen del **reconocimiento idiotipo-antiidiotipo** entre las células T y B (fig. 11-10); la respuesta frente a un antígeno externo que perturba esta red estaría condicionada por el estado de las interacciones idiotípicas.

Evidencia de redes idiotípicas

El antiidiotipo puede ser inducido por idiotipos autólogos

No hay duda de que los elementos que pueden formar una red idiotípica están presentes en el organismo y que durante las respuestas inducidas por antígenos se producen autoantiidiotipos. Por ejemplo, ciertas cepas de ratones a los que se inyectaron vacunas neumocócicas generan una respuesta de anticuerpos contra los grupos fosforilcolina en los cuales domina el idiotipo T15 codificado por la línea germinal. Cuando se examinan las células formadoras de anticuerpos individuales, mediante ensayos en placa en diferentes momentos después de la inmunización, se demuestran ondas de células T15$^+$ y anti-T15 (es decir, autoantiidiotipo). Asimismo, la inmunización por el agonista colinérgico BISQ, seguida por la fusión de las células esplénicas para producir hibridomas, arrojó una serie de anticuerpos monoclonales anti-BISQ (idiotipos) y una cantidad más pequeña de anticuerpos monoclonales antiidiotipo, de los cuales una proporción sorprendente se comportó como imágenes internas de BISQ en su capacidad para estimular los receptores de para acetilcolina (fig. 11-11). Mediante distintos sistemas experimentales también se demostró reactividad antiidiotípica en poblaciones de células T. En efecto, las células T antiidiotípicas que reconocen péptidos derivados de las regiones CDR2, CDR3 y del armazón de otros TCR parecen formar una parte del repertorio normal de las células T humanas. La inmunización de pacientes con esclerosis múltiple con clones de células T reactivas a la proteína básica de mielina induce células T citotóxicas CD8$^+$ que reconocen un péptido derivado de un idiotipo asociado con TCR CDR3 presentado por el CMH clase I.

Una red es evidente en la vida temprana

Si se utilizan los bazos de fetos de ratones que acaban de comenzar a secretar inmunoglobulina para producir hibridomas, una proporción extraordinariamente alta se encuentra interrelacionada en pares idiotipo-antiidiotipo. Este alto nivel de conectividad de los idiotipos no se observa en la vida más tardía y sugiere que estas primeras células, en gran parte la **subpoblación B-1** CD5$^+$ (véase pág. 267), están programadas para sintetizar especificidades genéticas de la línea germinal que tienen relaciones de redes.

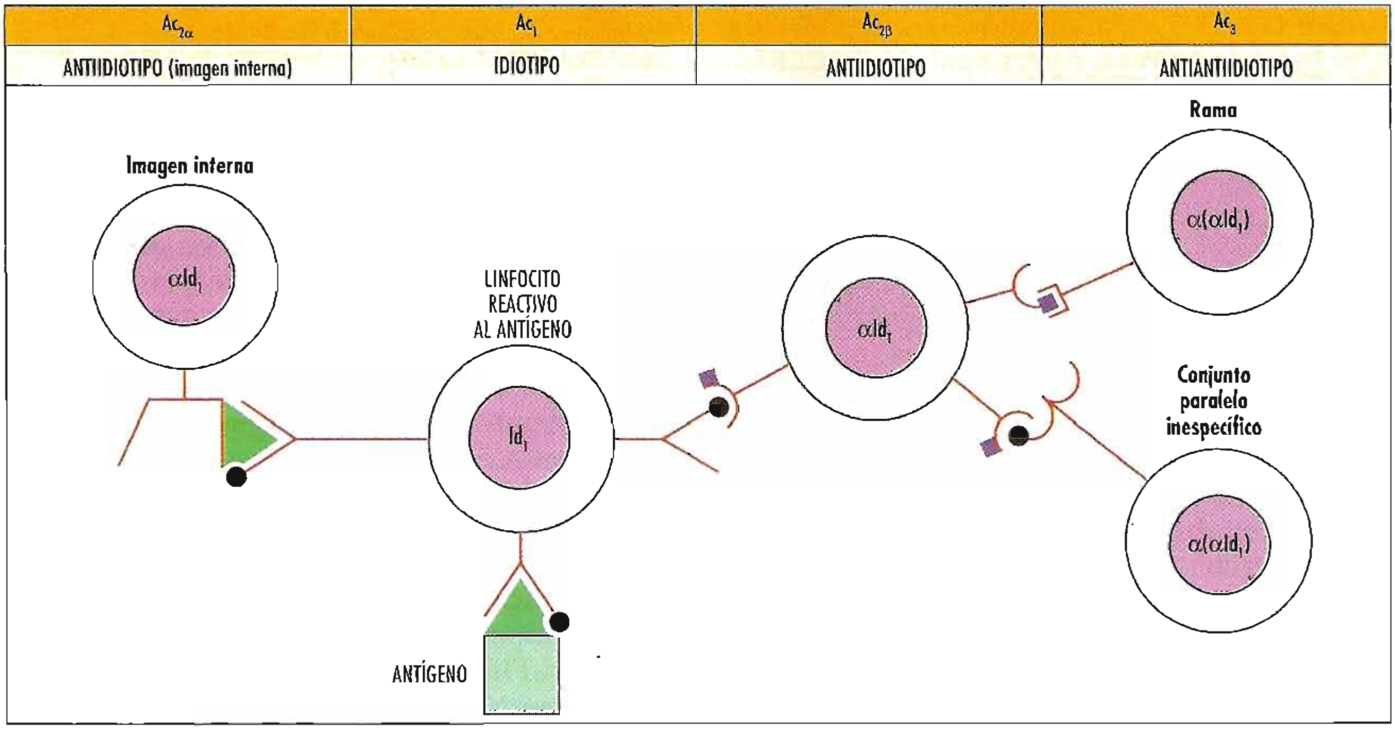


Fig. 11-10. **Elementos en una red idiotípica** en la que los receptores de antígenos sobre un linfocito reconocen recíprocamente un idiotipo sobre los receptores de otro. Los linfocitos T helper, T supresores y B interactúan por medio de reacciones idiotipo-antiidiotipo que producen estimulación o supresión. Las interacciones T-T podrían producirse mediante el reconocimiento directo de un receptor de células T (TCR) por el otro, o con más frecuencia mediante el reconocimiento de un péptido TCR procesado asociado con el CMH. Uno de los conjuntos antiidiotipo, $Ac_2\beta$ puede tener un idiotipo de forma similar al antígeno (es decir, proporciona una **imagen interna** de él). El mismo idiotipo (●) puede ser compartido por receptores de diferente especificidad, el conjunto paralelo inespecífico (dado que las diversas regiones hipervariables proporcionan algunos determinantes idiotípicos potenciales y un idiotipo dado no siempre forma parte del sitio de unión del epítopo, es decir, el parátopo), de modo que el anti-(anti-Id_1) no se une siempre al antígeno original. (A menudo se emplean las siguientes abreviaturas: α como prefijo = anti; Id = idiotipo; Ac_1 = Id; $Ac_2\alpha$ = αId que no abarca el parátopo; $Ac_2\beta$ = imagen interna αId que abarca el parátopo; Ac_3 = α(αId).]

Preocupación de las redes por lo propio

Paradójicamente, existen evidencias crecientes de que las redes preformadas de idiotipos tienen lo que podría parecer a primera vista un interés inusitado por los autoantígenos. Los hibridomas IgM CD5 producidos a partir del bazo de fetos de ratones con alta conectividad de idiotipos tienen especificidades similares a las de los "**anticuerpos naturales**" que aparecen en forma espontánea en animales libres de gérmenes no expuestos a antígenos exógenos. No sólo muchos de ellos están dirigidos contra antígenos polisacáridos de patógenos comunes, por ejemplo fosforilcolina, sino que algunos de ellos tienen baja afinidad por los componentes propios como DNA, IgG, proteínas del shock térmico y elementos del citoesqueleto. Es más plausible el concepto de una población de células B-1, principalmente CD5, que forma un mundo que mira hacia el interior en el cual las células componentes se reconocen y estimulan sin cesar entre ellas, a través de las interacciones de sus receptores idiotípicos, para producir una gama de anticuerpos IgM que proporcionan una defensa temprana contra la infección. Pero la autorreactividad de muchas de estas células es enigmática. Las redes de células T reguladoras preestablecidas pueden involucrar también ciertos autoantígenos dominantes, como la proteína del shock térmico hsp65 y la proteína básica de mielina del tejido nervioso. ¿Es tan importante el reconocimiento de lo propio como el de lo no propio?

Irun Cohen ha propuesto la idea intrigante de un **homúnculo** (hombrecito) **inmunitario**, en el cual el cuadro funcional del organismo es codificado dentro del sistema inmune por comités de redes reguladoras de células B y T, que reconocen ciertos autoantígenos dominantes representantes de los principales órganos del cuerpo. (La analogía es con el homúnculo neurológico, una imagen funcional del organismo en la cual el espacio ocu-

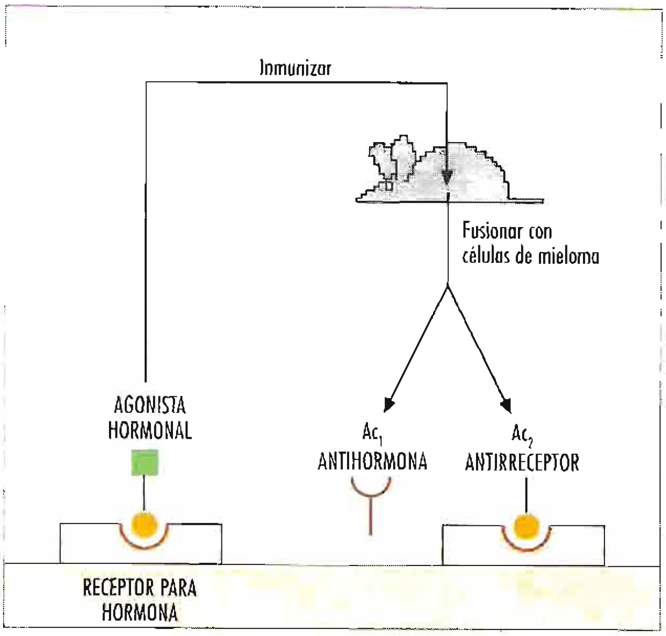

Inmunizar
Fusionar con células de mieloma
AGONISTA HORMONAL
Ac$_1$ ANTIHORMONA
Ac$_2$ ANTIRRECEPTOR
RECEPTOR PARA HORMONA

Fig. 11-11. Producción espontánea de autoantiidiotipo durante la inmunización con un agonista hormonal. Los hibridomas obtenidos del ratón inmunizado secretan antihormona y antiidiotipo que reaccionan con el receptor hormonal; esto indica una relación estrecha entre hormona, receptor, antihormona y antiidiotipo, lo que implica cierta conexión entre autoanticuerpos dentro de la red idiotípica y los sistemas hormonales.

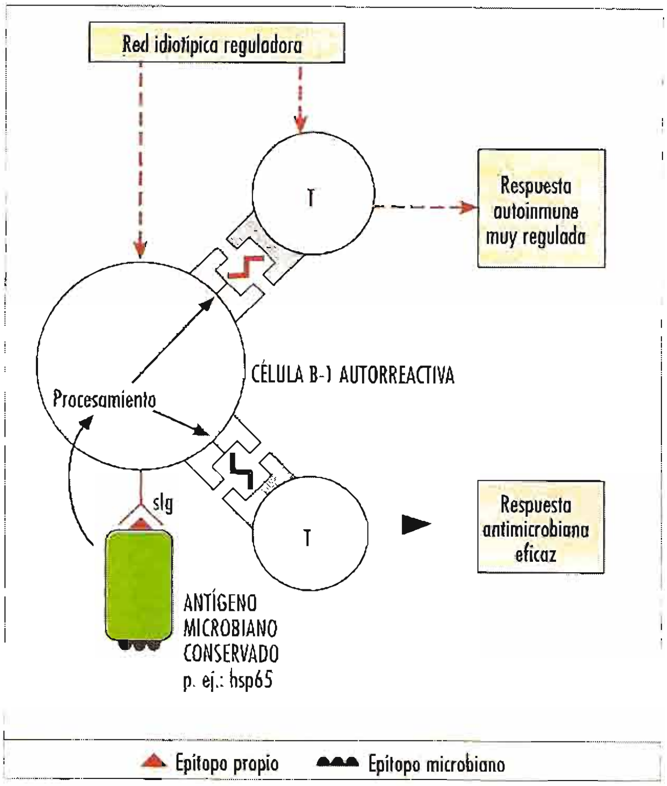

Red idiotípica reguladora
T
Respuesta autoinmune muy regulada
CÉLULA B-1 AUTORREACTIVA
Procesamiento
sIg
T
Respuesta antimicrobiana eficaz
ANTÍGENO MICROBIANO CONSERVADO p. ej.: hsp65
▲ Epítopo propio
▲▲▲ Epítopo microbiano

Fig. 11-12. Especulación sobre el papel de las células B-1 CD54 autorreactivas en la infección microbiana. El receptor de la inmunoglobulina de superficie (sIg) captura en forma selectiva el antígeno bacteriano conservado que reacciona en forma cruzada (en este caso, proteína del choque térmico hsp65) y, después del procesamiento, presenta los epítopos propios y los epítopos específicos del microbio asociados con CMH clase II. La célula T autorreactiva está muy controlada por la red idiotípica reguladora dado que (hipotético) los autoantígenos importantes se codifican en forma dominante dentro del "homúnculo inmunitario", pero la célula T antimicrobiana está libre para montar una respuesta enérgica. Esto explica la dominancia de los antígenos conservados. (Basado en Cohen I.R. y Young D.B. [1991] *Immunology Today* 12, 105.)

pado por una red nerviosa dada está directamente relacionado con la importancia neurológica del órgano que codifica, por ejemplo, los órganos de la visión y del habla humanos, y los órganos olfatorios caninos tienen una representación prominente.) La relevancia de estas ideas para el control de la autoinmunidad se analizará en el capítulo 19, pero aquí podemos especular sobre cómo podrían relacionarse también con la respuesta a la infección. Consideremos un antígeno microbiano dominante, como la proteína hsp65, que está altamente conservada en la naturaleza y tiene varios epítopos potenciales idénticos con los de la homóloga propia. En una infección, cualquier célula B-1 que reconozca la hsp65 propia focalizará en forma selectiva la hsp65 *bacteriana* en sus receptores de superficie (lo cual la volverá dominante sobre otros antígenos bacterianos) y la procesará. Los epítopos propios serán reconocidos por células T autorreactivas que están altamente reguladas dentro del homúnculo, mientras que las células T específicas para los epítopos hsp no propios no están así restringidas y generarán una respuesta inmune eficaz (fig. 11-12).

Regulación idiotípica de las respuestas inmunes

Hay una serie de investigaciones basadas en el siguiente protocolo en cascada. El antígeno se inyecta en el animal$_1$ y el anticuerpo producido, Ac$_1$ (idiotipo), es purificado e inyectado en el animal$_2$. El Ac$_2$ (antiidiotipo) así formado es purificado y utilizado para inmunizar al animal$_3$, y así sucesivamente (fig. 11-13). Del mismo modo se observa que el Ac$_2$ (anti-Id$_1$) reconoce un idiotipo (Id$_1$) sobre el Ac$_1$ que también está fuertemente presente en Ac$_3$. Ac$_4$ se comporta como Ac$_2$ al ver el idiotipo común sobre Ac$_1$ y Ac$_3$. No obstante, aunque Ac$_1$ y Ac$_3$ com-

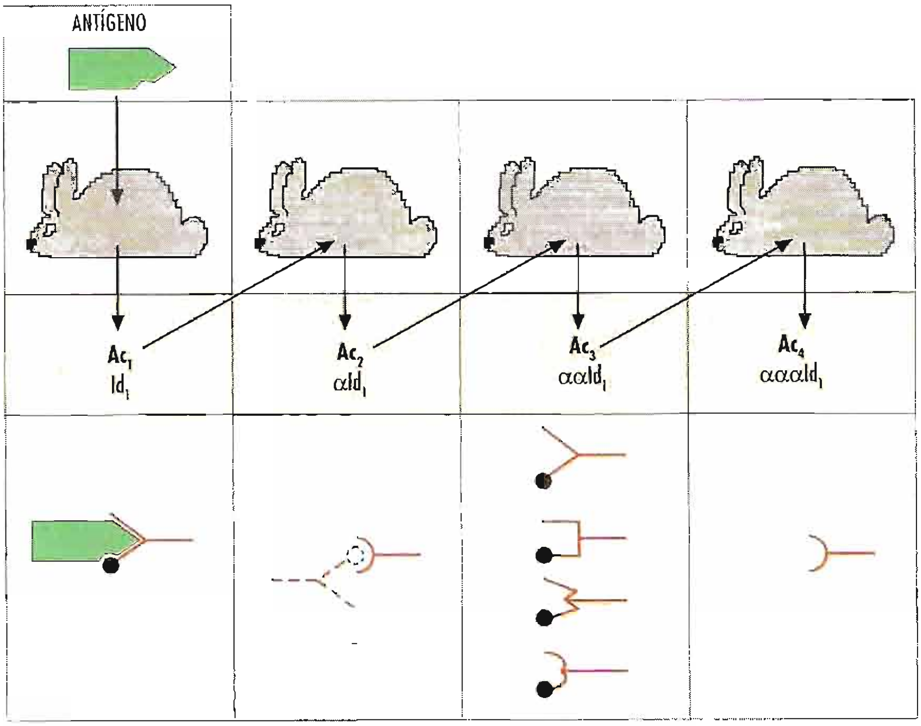


Fig. 11-13. Una cascada idiotípica. Ac$_1$ producido por el antígeno se inyecta en un segundo animal para producir Ac$_2$; éste por su parte se purifica e inyecta en el animal$_3$ y así sucesivamente. Ac$_2$ y Ac$_4$ reaccionan con un idiotipo (●) sobre Ac$_1$ y Ac$_3$, pero sólo una fracción de Ac$_3$ reacciona con el antígeno original. Bona y Paul (*Immunology Today* 1982, 3, 230) interpretaron los resultados en términos de un idiotipo regulador común Id$_1$ compartido por muchos anticuerpos distintos de los que reaccionan con el antígeno original, pero reclutados por la inyección de antiId$_1$ (Ac$_2$) que estimula la gama de linfocitos cuyos receptores tienen este itiodipo común o que reacciona en forma cruzada. Sobre esta base, se puede comprender el hallazgo paradójico de Oudin y Cazenave de que no todas las moléculas de Ig que portan un idiotipo dado en respuesta a un antígeno pueden funcionar como anticuerpos específicos ya que pertenecen al conjunto paralelo inespecífico. La presencia de gran cantidad de Id$_1$ en Ac$_3$ también sugiere que la relación lineal por medio del Id$_1$ que reacciona en forma cruzada es dominante, con una ramificación relativamente poco importante a través de distintos idiotipos "privados" sobre las moléculas de Ac$_2$ (véase fig. 11-10) debido a la baja frecuencia de esos idiotipos y sus antiidiotipos.

parten idiotipos, sólo una pequeña fracción de Ac$_3$ reacciona con el antígeno original. Éste es el resultado que uno esperaría si el idiotipo fuera un Id reactivo que reacciona en forma cruzada (Id público) presente sobre distintos anticuerpos (y por lo tanto receptores de células B) de diferentes especificidades. Cuando el anti-Id$_1$ (Ac$_2$) se inyecta en el animal$_3$, reaccionaría con todas las células B que poseen Id$_1$ (fig. 11-3) y se presume que las estimularía para producir anticuerpos contra Id$_1$, sólo una fracción de los cuales tiene especificidad por el antígeno original.

Estos idiotipos de aparición frecuente y por lo común codificados por la línea germinal parecen ser bastante fáciles de provocar con antiidiotipo y, por lo tanto, son candidatos para los **Id reguladores** que pueden estar bajo cierto grado de control por una red idiotípica limitada. Relacionadas con esta idea son las observaciones de que, tarde en la inmunización, los anticuerpos con especificidades claramente distintas, dirigidos contra epítopos totalmente diferentes sobre el mismo antígeno, a menudo tienen un idiotipo común o que reacciona en forma cruzada. Presumiblemente, el primer clon de células B en expandirse que posee un Id de reacción cruzada dominante puede generar una población de células Th reguladoras que tanto reconocen este idiotipo como el antígeno. El procesamiento del receptor Ig internalizado más el antígeno conduce a la expresión de péptidos derivados del idiotipo y el antígeno en asociación con CMH clase II; entonces, estas células B pueden acceder al repertorio completo de células Th específicas para el antígeno y específicas para el idiotipo. Las últimas pueden ser de dos tipos, uno que reconoce el idiotipo del receptor nativo (no restringido por el CMH) y el otro, el idiotipo procesado (restringido por CMH). A partir de la mezcla compleja de linfocitos B activados por los otros epítopos sobre el antígeno, estas células Th reclutan en forma selectiva a aquellas con receptores Id positivos. Por consiguiente, podemos ver cómo Th específicas para el antígeno y el idiotipo actúan en forma sinérgica en la respuesta de anticuerpos, y las últimas expanden los clones Id positivos inducidos por las primeras.

El fenómeno del "**pecado antigénico original**" se presenta cuando la respuesta inmune se vuelve "enclavada" en epítopos particulares hallados originariamente en un microorganismo, de modo que en gran parte ignora aun los epítopos inmunodominantes normales durante un encuentro ulterior con un miocroorganismo antigénicamente relacionado pero no idéntico. Aunque la competición por el antígeno por parte de la población expandida que forma las células B de memoria desempeña un papel importante, las células Th con memoria específicas de idiotipo también podrían contribuir a este fenómeno.

Las redes idiotípicas también pueden permitir que la respuesta inmune "continúe de una manera habitual" durante períodos prolongados y mantenga la población de células de memoria, mientras que la presencia de células Th programadas dirigidas contra un Id común en las distintas células B de memoria específicas para un antígeno dado aumentaría su índice de movilización durante una respuesta secundaria.

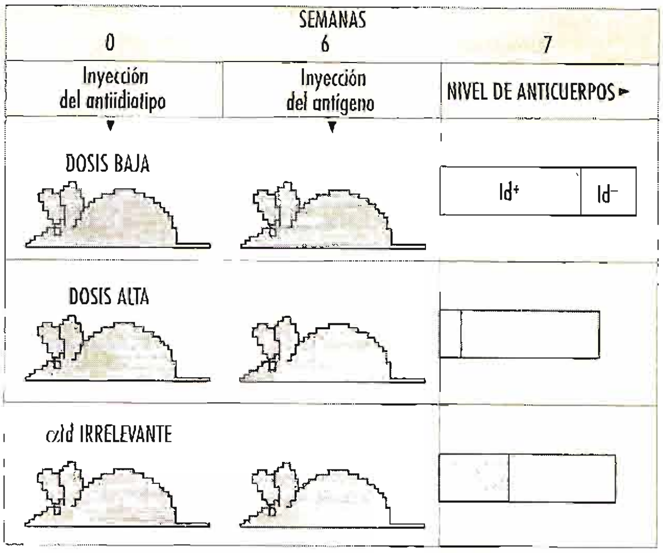


Fig. 11-14. Modulación de un idiotipo importante en la respuesta de anticuerpos contra el antígeno por el antiidiotipo. En el ejemplo elegido, el idiotipo está presente en una proporción sustancial de los anticuerpos producidos en los controles inyectados con antiidiotipo irrelevante más antígeno (es decir, es un idiotipo público o que reacciona en forma cruzada; véase pág. 48). El tratamiento previo con 10 ng de un antiidiotipo monoclonal expande mucho la población de anticuerpos Id^-, mientras que la inyección previa de 10 µg de antiidiotipo suprime casi por completo la expresión del idiotipo sin tener ningún efecto sustancial sobre la producción total de anticuerpos debido a un aumento compensador en los clones de anticuerpos Id^-.

Manipulación de la respuesta inmune a través de idiotipos

Las dosis muy bajas de antiidiotipo, del orden de nanogramos, pueden aumentar mucho la expresión del idiotipo en la respuesta contra un antígeno dado, mientras que las dosis en el orden de los microgramos conducen a una supresión (fig. 11-14). Por lo tanto, la red idiotípica brinda interesantes oportunidades de manipular la respuesta inmune, sobre todo en los estados de hipersensibilidad como la enfermedad autoinmune, la alergia y el rechazo de injerto. Sin embargo, la respuesta de las células B por lo común es tan diversa que es probable que la supresión por anti-Id sea difícil; aun cuando la respuesta es dominada por un Id público y ese idiotipo es suprimido, la expansión compensadora de los clones que poseen otros idiotipos asegura que la disminución en el título total de anticuerpos sea relativamente poco espectacular (véase fig. 11-14). Es concebible que las células Th expresen un espectro más estrecho de idiotipos y así son más susceptibles a la supresión por autoinmunización idiotípica. Son alentadoras las comunicaciones de que la "vacunación" con líneas irradiadas de células Th específicas para antígenos de cerebro o tiroides impide la inducción de autoinmunidad experimental contra el órgano relevante. Un enfoque totalmente diferente sería utilizar antiidiotipos monoclonales del conjunto de "imágenes internas del antígeno" (fig. 11-10), para estimular células T supresoras específicas para el antígeno capaces de inhibir las células B dirigidas contra otros epítopos sobre el antígeno a través de la formación de puentes por el antígeno mismo (véase fig. 11-8).

Dado que sabemos que en condiciones apropiadas los antiidiotipos también pueden estimular la producción de anticuerpos, podría ser posible utilizar antiidiotipos monoclonales de "imagen interna" como antígenos "sustitutos" para la inmunización, en los casos en que es difícil obtener el antígeno en gran volumen; por ejemplo, antígenos de parásitos como filarias o los débiles antígenos embrionarios asociados con algunos cánceres. Otro ejemplo es cuando los antígenos proteicos obtenidos por síntesis química o clonación genética no se pliegan en la configuración de la molécula nativa; éste no es un problema con el anti-Id, que por definición ha sido seleccionado para tener la forma del epítopo antigénico.

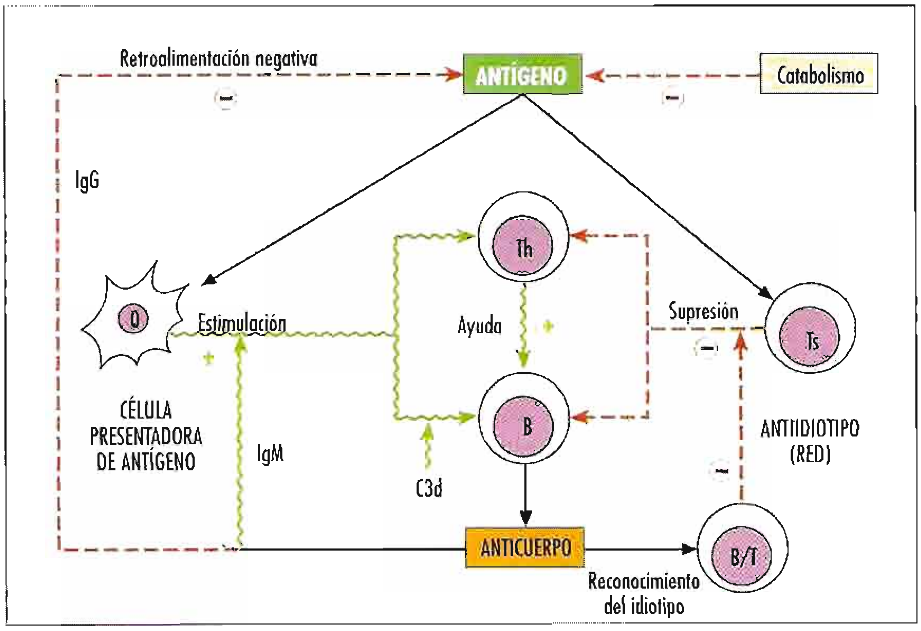


Fig. 11-15. Regulación de la respuesta inmune. Th, células T helper; Ts, célula T supresora. La ayuda de las células T para la inmunidad celular estará sujeta a una regulación similar. Algunos de estos mecanismos pueden ser interdependientes; por ejemplo, se podrían imaginar anticuerpos antiidiotípicos que actúan en conjunto con una célula T supresora al unirse a su receptor Fc o células T supresoras con especificidad por el idiotipo sobre las células Th o B. Para evitar tantas flechas confusas omitimos el reclutamiento de las células B por células Th antiidiotípicas y la activación directa de Ts antiidiotipo por células Th positivas para idiotipo.

En esta etapa, cuando el lector se siente algo abrumado, pruebe echar una mirada a la figura 11-15, que intenta resumir los principales factores que en la actualidad se cree que modulan la respuesta inmune.

LA INFLUENCIA DE LOS FACTORES GENÉTICOS

Algunos genes afectan la capacidad de respuesta general

Los ratones se pueden criar en forma selectiva para desarrollar respuestas altas o bajas de anticuerpos, a través de varias generaciones, para obtener dos líneas, una de las cuales produce de modo constante altos títulos de anticuerpos contra distintos antígenos y la otra, títulos relativamente bajos (fig. 11-16; Biozzi y col.). De los más o menos diez loci genéticos involucrados, algunos dan origen a un índice mayor de proliferación y diferenciación de las células B, mientras que uno o más afectan el comportamiento de los macrófagos.

Los genes de los receptores antigénicos están relacionados con la respuesta inmune

Sin duda los genes para Ig y TCR *V, D* y *J*, que codifican los sitios específicos de reconocimiento de los receptores antigénicos de los linfocitos, tienen importancia fundamental para la respuesta inmune adquirida. Sin embargo, dado que los mecanismos para generar diversidad de receptores a partir de los genes disponibles son tan generosos (véase pág. 72), es improbable que la inmunodeficiencia sobrevenga como consecuencia de un escaso repertorio de genes de regiones variables de Ig o de TCR. No obstante, sólo en ocasiones observamos agujeros en el repertorio, debido a la ausencia de un gen; la falta de respuesta al polímero glucídico α1-6 dextrán es una característica de los animales sin un gen *V* de inmunoglobulina particular; los ratones que carecen del gen $V\alpha_2$ TCR no pueden montar una respuesta de células T citotóxicas al antígeno masculino H-Y.

La respuesta inmune puede ser influida por el CMH

Hubo un gran entusiasmo cuando se descubrió por primera vez que las respuestas de anticuerpos frente a distintas sustancias simples, antigénicamente timodependientes, están determinadas por genes que se mapean en el CMH. Por ejemplo, los ratones del haplotipo *H*-2^b responden bien al polipéptido ramificado sintético (T,G)-A-L, mientras que los ratones *H*-2^k responden poco (cuadro 11-2).

Se dijo que los ratones del haplotipo *H*-2^b (es decir, un conjunto particular de genes *H*-2) son **altos respondedores** para (T,G)-A-L porque poseen el gen apropiado de respuesta inmune (*Ir*). Con otro

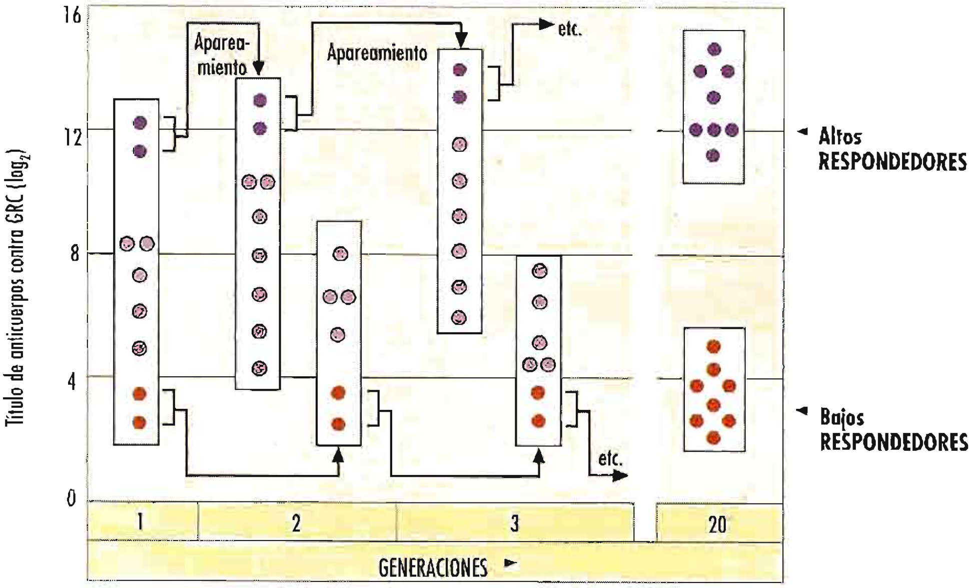


Fig. 11-16. Cría selectiva de respondedores que desarrollan títulos altos y bajos de anticuerpos (según Biozzi y col.). Se inmuniza a una población de base de ratones salvajes (con genes locos mezclados y gran variabilidad en la respuesta de anticuerpos) con glóbulos rojos de carnero (GRC), un antígeno con numerosos determinantes. El título de anticuerpos de cada ratón individual se muestra con un círculo. Se aparearon el macho y la hembra con los anticuerpos de título máximo (●) y sus crías se expusieron al antígeno. De nuevo, se aparearon a los mejores respondedores y así sucesivamente durante 20 generaciones cuando todos los ratones eran altos respondedores para los GRC y una variedad de otros antígenos distintos. Lo mismo se hizo con los de peor respuesta (●), lo que dio una cepa de animales de baja respuesta. Las dos líneas son comparables en su capacidad para eliminar partículas de carbono o GRC de la sangre por fagocitosis, pero los macrófagos de los altos respondedores presentan el antígeno de manera más eficiente (véase pág. 176). Por otra parte, los animales bajos respondedores sobreviven a la infección por *Salmonella typhimurium* mejor y sus macrófagos sostienen una replicación mucho más lenta de *Listeria* (véase pág. 297), lo que indica una capacidad microbicida intrínseca más agresiva.

antígeno sintético, (H,G)-A-L, que tiene histidina en lugar de tirosina, la posición se invierte, y los "malos respondedores para (T,G)-A-L" proporcionan ahora una buena respuesta de anticuerpos y los "buenos respondedores para (T,G)-A-L" dan una débil, lo que muestra que la capacidad de una cepa particular para dar una respuesta alta o baja varía con cada antígeno individual (cuadro 11-2). Estas relaciones sólo son aparentes cuando se estudian antígenos de estructura altamente restringida, porque la respuesta a cada determinante individual está controlada por un gen *Ir* y es menos probable que los diferentes determinantes en un antígeno complejo se asocien todos con genes *Ir* de respuesta constantemente alta o baja; sin embargo, aunque se esperaría un promedio de genes de alta y baja respuesta en forma aleatoria, dado que los distintos determinantes en la mayoría de los antígenos complejos timodependientes no están relacionados desde el punto de vista estructural, el resultado se verá afectado por la dominancia de uno o más epítopos (véase pág. 226). Así, se han observado respuestas inmunes relacionadas con H-2 no sólo con polipéptidos relativamente simples, sino también con antígenos de trasplante provenientes de otra cepa y autoantígenos, en las que el huésped reconoce como extraños tan sólo uno o dos determinantes. Con los antígenos complejos, en la mayoría de los casos, pero no en todos, la relación con H-2 habitualmente sólo se observa cuando la dosis administrada es tan baja que el sistema inmune reconoce nada más que un determinante inmunodominante. De esta forma, las reacciones controladas por genes *Ir* son distintas de la capacidad de respuesta global a distintos antígenos complejos, lo cual es una característica de los ratones Biozzi (arriba).

Los genes Ir se encuentran en la región H-2I y controlan la cooperación T-B

El cuadro 11-3 proporciona cierta idea del tipo de análisis utilizado para mapear los genes *Ir*. Las tres cepas de respondedores altos tienen genes *H-2*

Cuadro 11-2. *Haplotipo H-2 ligado a respuestas inmunes altas, bajas e intermedias para péptidos sintéticos. (T,G)-A-L, polilisina con cadenas laterales de polialanina con extremos al azar con tirosina y glutamina; (H,G)-A-L, lo mismo con histidina en lugar de tirosina*

ANTÍGENO	HAPLOTIPO H-2				
	b	k	d	a	s
(T,G)-A-L	Alta	Baja	Int	Baja	Baja
(H,G)-A-L	Baja	Alta	Int	Alta	Baja

Cuadro 11-3. *Mapeo del gen Ir para las respuestas (H,G)-A-L mediante el análisis de diferentes cepas recombinantes*

Cepa	Región H-2				Respuesta (H,G)-A-L
	K	A	E	D	
A	k	k	k	b	Alta
A, TL	s	k	k	b	Alta
B.10.A (4R)	k	k	b	b	Alta
B.10	b	b	b	b	Baja
A.SW	s	s	s	s	Baja

individuales, derivados de cepas puras prototípicas que se aparearon en forma cruzada para producir recombinaciones dentro de la región H-2. Los únicos genes que tienen en común son A^k y D^b; dado que la cepa B.10 que tiene el gen D^b es un bajo respondedor, una respuesta alta debe estar relacionada, en este caso, con la posesión de A^k. Las moléculas de la región I deben representar el producto del gen *Ir*, dado que una mutación puntual en la subregión H-2A en una cepa condujo a un cambio en la molécula de clase II en un sitio que afectó su especificidad polimorfa transformó los ratones de un estado de respondedores altos a otro de respondedores bajos en relación con su respuesta de anticuerpos timodependientes in vivo. La mutación también redujo mucho la proliferación de células T de animales inmunizados cuando fueron expuestos in vitro a antígeno más células presentadoras apropiadas; hay una buena correlación entre la proliferación de las células T específicas para el antígeno y el estado de respondedor del huésped. La implicación de que **el estado de respondedor puede estar relacionado con la generación de células Th** es ampliamente sostenida en estudios de transferencia adoptiva, que muestran que los ratones F1 irradiados (H-2^b × H-2^k) elaboran buenas respuestas de anticuerpos contra (T,G)-A-L cuando son reconstituidos con células B programadas para el antígeno de otros F1 más células T provenientes de un H-2^b programado (de alto respondedor). Las células T de los ratones H-2^k (de bajos respondedores) sólo dieron escasa ayuda para las respuestas de anticuerpos. Esto también explica por qué estos efectos del gen *H-2* se observan con antígenos timodependientes pero no con antígenos timoindependientes.

Se han propuesto tres mecanismos para explicar la alta y baja capacidad de respuesta relacionadas con la clase II.

1. *Presentación defectuosa.* En un alto respondedor, el procesamiento del antígeno y su reconocimiento por una célula T correspondiente conducen a la activación y a la expansión clonal de los linfocitos (fig. 11-17a). Aunque hay (y debe haber) una degeneración considerable en la especificidad de la ranura de clase II para la unión al péptido, la variación de ciertos residuos clave puede alterar la fuerza de unión a un péptido particular (véase pág. 108) y convertir un respondedor alto en otro bajo, porque el CMH no presenta el antígeno a la célula T reactiva (fig. 11-17b). A veces el procesamiento natural de un antígeno en un individuo dado no produce un péptido que encaja bien en sus moléculas del CMH. Un estudio mostró que un clon de células T citotóxicas restringidas a HLA-A2, que reconoció los residuos 58-68 de la proteína de la matriz del virus influenza A, podía reaccionar en forma cruzada con células de un individuo A69 pulsadas con el mismo péptido; no obstante, el clon no reconocía las células A69 *infectadas* por virus influenza A. Es interesante destacar que los individuos con el CMH clase I HLA-A69 desarrollan inmunidad contra un epítopo diferente sobre la misma proteína.

2. *Repertorio defectuoso de células T.* Las células T con una afinidad moderada a alta por las moléculas del propio CMH y sus complejos con autoantígenos procesados perderán la capacidad de respuesta (véase inducción de tolerancia, pág. 258), lo que crea un "agujero" en el repertorio de células T. Si se produce una reacción cruzada, o sea similitud estructural en el nivel de reconocimiento de las células T entre un antígeno extraño y una molécula propia que ya ha inducido falta de respuesta, el huésped carecerá de células T específicas para el antígeno extraño y, por lo tanto, será un bajo respondedor (fig. 11-17c). Para dar un ejemplo completo, los ra-

tones de la cepa DBA/2 responden bien al péptido sintético poliglutamilo, politirosina (GT), mientras que los ratones BALB/c no lo hacen, aunque ambos tienen genes de clase II idénticos. Los blastos de células B de BALB/c expresan una estructura que imita a GT y la presunción sería que la autotolerancia convierte estos ratones en no respondedores a GT. Esto se confirmó mostrando que los ratones de DBA/2 vueltos tolerantes por una cantidad pequeña de células hematopoyéticas de BALB/c fueron cambiados de un estado de altos a otro de bajos respondedores. Para concluir la historia de una forma muy satisfactoria, se observó que los ratones DBA/2 a los que se inyectaron blastos B de BALB/c, inducidos por lipopolisacárido activador policlonal, estaban estimulados para GT.

3. *Supresión por células T.* Nos gustaría referirnos otra vez a la baja capacidad de respuesta restringida por el CMH que puede aparecer con antígenos relativamente complejos (véase pág. 230), dado que ilustra la idea de que el estado de bajo respondedor puede surgir como una expresión de la actividad supresora de las células T CD8 (fig. 11-17d). La baja respuesta puede ser dominante en los heterocigotos clase II, lo que indica que la supresión puede actuar contra Th restringida a cualquier otra molécula de clase II. En esto difiere de los modelos 1 y 2 anteriores, en los cuales la alta respuesta es dominante en un heterocigoto porque los factores asociados con el gen de bajo respondedor no pueden influir en la actividad del alto respondedor. Globalmente, parece probable que cada uno de los tres modelos pueda aportar la base para los fenómenos del gen *Ir* relacionados a la clase II en diferentes circunstancias.

Los factores que influyen en el control genético de la respuesta inmune se resumen en la figura 11-18.

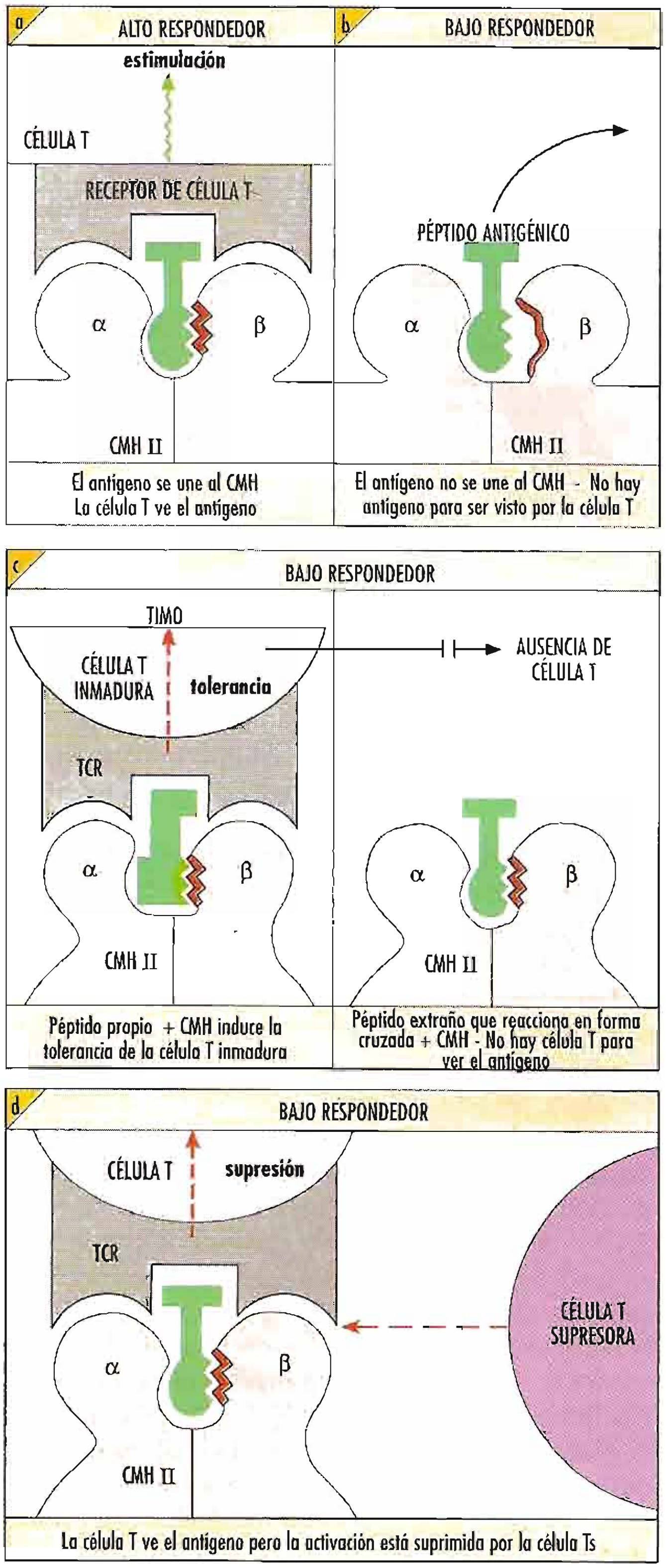

a
ALTO RESPONDEDOR
estimulación
CÉLULA T
RECEPTOR DE CÉLULA T
α
β
CMH II
El antígeno se une al CMH
La célula T ve el antígeno
b
BAJO RESPONDEDOR
PÉPTIDO ANTIGÉNICO
α
β
CMH II
El antígeno no se une al CMH - No hay antígeno para ser visto por la célula T
c
BAJO RESPONDEDOR
TIMO
CÉLULA T INMADURA
tolerancia
TCR
α
β
CMH II
Péptido propio + CMH induce la tolerancia de la célula T inmadura
AUSENCIA DE CÉLULA T
α
β
CMH II
Péptido extraño que reacciona en forma cruzada + CMH - No hay célula T para ver el antígeno
d
BAJO RESPONDEDOR
CÉLULA T
supresión
TCR
α
β
CMH II
CÉLULA T SUPRESORA
La célula T ve el antígeno pero la activación está suprimida por la célula Ts

Fig. 11-17. Diferentes mecanismos pueden explicar la baja respuesta de células T al antígeno en asociación con CMH clase II.

REDES INMUNONEUROENDOCRINAS REGULADORAS

A medida que nos concentramos cada vez más en las bufonadas del sistema inmune, existe el peligro de considerar el organismo como una colección de células mieloides y linfoides vagando en un gran saco y no tener en cuenta la fisiología integrada de éste. Dentro del contexto fisiológico más amplio, se ha llamado cada vez más la atención sobre las interacciones entre los sistemas inmunitario y neuroendocrino.

Las células inmunitarias tienen los receptores que les permiten recibir señales de una amplia gama de hormonas: corticosteroides, insulina, hormona de crecimiento, estradiol, testosterona, prolactina, agentes β-adrenérgicos, acetilcolina, endorfinas y encefalinas. En general, los glucocorticoides y los andrógenos deprimen las respuestas inmunes,

Cuadro 11-2. *Haplotipo H-2 ligado a respuestas inmunes altas, bajas e intermedias para péptidos sintéticos. (T,G)-A-L, polilisina con cadenas laterales de polialanina con extremos al azar con tirosina y glutamina; (H,G)-A-L, lo mismo con histidina en lugar de tirosina*

ANTÍGENO	HAPLOTIPO H-2				
	b	k	d	a	s
(T,G)-A-L	Alta	Baja	Int	Baja	Baja
(H,G)-A-L	Baja	Alta	Int	Alta	Baja

Cuadro 11-3. *Mapeo del gen Ir para las respuestas (H,G)-A-L mediante el análisis de diferentes cepas recombinantes*

Cepa	Región H-2				Respuesta (H,G)-A-L
	K	A	E	D	
A	k	k	k	b	Alta
A, TL	s	k	k	b	Alta
B.10.A (4R)	k	k	b	b	Alta
B.10	b	b	b	b	Baja
A.SW	s	s	s	s	Baja

individuales, derivados de cepas puras prototípicas que se aparearon en forma cruzada para producir recombinaciones dentro de la región H-2. Los únicos genes que tienen en común son A^k y D^b; dado que la cepa B.10 que tiene el gen D^b es un bajo respondedor, una respuesta alta debe estar relacionada, en este caso, con la posesión de A^k. Las moléculas de la región I deben representar el producto del gen *Ir*, dado que una mutación puntual en la subregión H-2A en una cepa condujo a un cambio en la molécula de clase II en un sitio que afectó su especificidad polimorfa transformó los ratones de un estado de respondedores altos a otro de respondedores bajos en relación con su respuesta de anticuerpos timodependientes in vivo. La mutación también redujo mucho la proliferación de células T de animales inmunizados cuando fueron expuestos in vitro a antígeno más células presentadoras apropiadas; hay una buena correlación entre la proliferación de las células T específicas para el antígeno y el estado de respondedor del huésped. La implicación de que **el estado de respondedor puede estar relacionado con la generación de células Th** es ampliamente sostenida en estudios de transferencia adoptiva, que muestran que los ratones F1 irradiados (H-2^b × H-2^k) elaboran buenas respuestas de anticuerpos contra (T,G)-A-L cuando son reconstituidos con células B programadas para el antígeno de otros F1 más células T provenientes de un H-2^b programado (de alto respondedor). Las células T de los ratones H-2^k (de bajos respondedores) sólo dieron escasa ayuda para las respuestas de anticuerpos. Esto también explica por qué estos efectos del gen *H-2* se observan con antígenos timodependientes pero no con antígenos timoindependientes.

Se han propuesto tres mecanismos para explicar la alta y baja capacidad de respuesta relacionadas con la clase II.

1. *Presentación defectuosa.* En un alto respondedor, el procesamiento del antígeno y su reconocimiento por una célula T correspondiente conducen a la activación y a la expansión clonal de los linfocitos (fig. 11-17a). Aunque hay (y debe haber) una degeneración considerable en la especificidad de la ranura de clase II para la unión al péptido, la variación de ciertos residuos clave puede alterar la fuerza de unión a un péptido particular (véase pág. 108) y convertir un respondedor alto en otro bajo, porque el CMH no presenta el antígeno a la célula T reactiva (fig. 11-17b). A veces el procesamiento natural de un antígeno en un individuo dado no produce un péptido que encaja bien en sus moléculas del CMH. Un estudio mostró que un clon de células T citotóxicas restringidas a HLA-A2, que reconoció los residuos 58-68 de la proteína de la matriz del virus influenza A, podía reaccionar en forma cruzada con células de un individuo A69 pulsadas con el mismo péptido; no obstante, el clon no reconocía las células A69 *infectadas* por virus influenza A. Es interesante destacar que los individuos con el CMH clase I HLA-A69 desarrollan inmunidad contra un epítopo diferente sobre la misma proteína.

2. *Repertorio defectuoso de células T.* Las células T con una afinidad moderada a alta por las moléculas del propio CMH y sus complejos con autoantígenos procesados perderán la capacidad de respuesta (véase inducción de tolerancia, pág. 258), lo que crea un "agujero" en el repertorio de células T. Si se produce una reacción cruzada, o sea similitud estructural en el nivel de reconocimiento de las células T entre un antígeno extraño y una molécula propia que ya ha inducido falta de respuesta, el huésped carecerá de células T específicas para el antígeno extraño y, por lo tanto, será un bajo respondedor (fig. 11-17c). Para dar un ejemplo completo, los ra-

tones de la cepa DBA/2 responden bien al péptido sintético poliglutamilo, politirosina (GT), mientras que los ratones BALB/c no lo hacen, aunque ambos tienen genes de clase II idénticos. Los blastos de células B de BALB/c expresan una estructura que imita a GT y la presunción sería que la autotolerancia convierte estos ratones en no respondedores a GT. Esto se confirmó mostrando que los ratones de DBA/2 vueltos tolerantes por una cantidad pequeña de células hematopoyéticas de BALB/c fueron cambiados de un estado de altos a otro de bajos respondedores. Para concluir la historia de una forma muy satisfactoria, se observó que los ratones DBA/2 a los que se inyectaron blastos B de BALB/c, inducidos por lipopolisacárido activador policlonal, estaban estimulados para GT.

3. *Supresión por células T.* Nos gustaría referirnos otra vez a la baja capacidad de respuesta restringida por el CMH que puede aparecer con antígenos relativamente complejos (véase pág. 230), dado que ilustra la idea de que el estado de bajo respondedor puede surgir como una expresión de la actividad supresora de las células T CD8 (fig. 11-17d). La baja respuesta puede ser dominante en los heterocigotos clase II, lo que indica que la supresión puede actuar contra Th restringida a cualquier otra molécula de clase II. En esto difiere de los modelos 1 y 2 anteriores, en los cuales la alta respuesta es dominante en un heterocigoto porque los factores asociados con el gen de bajo respondedor no pueden influir en la actividad del alto respondedor. Globalmente, parece probable que cada uno de los tres modelos pueda aportar la base para los fenómenos del gen *Ir* relacionados a la clase II en diferentes circunstancias.

Los factores que influyen en el control genético de la respuesta inmune se resumen en la figura 11-18.

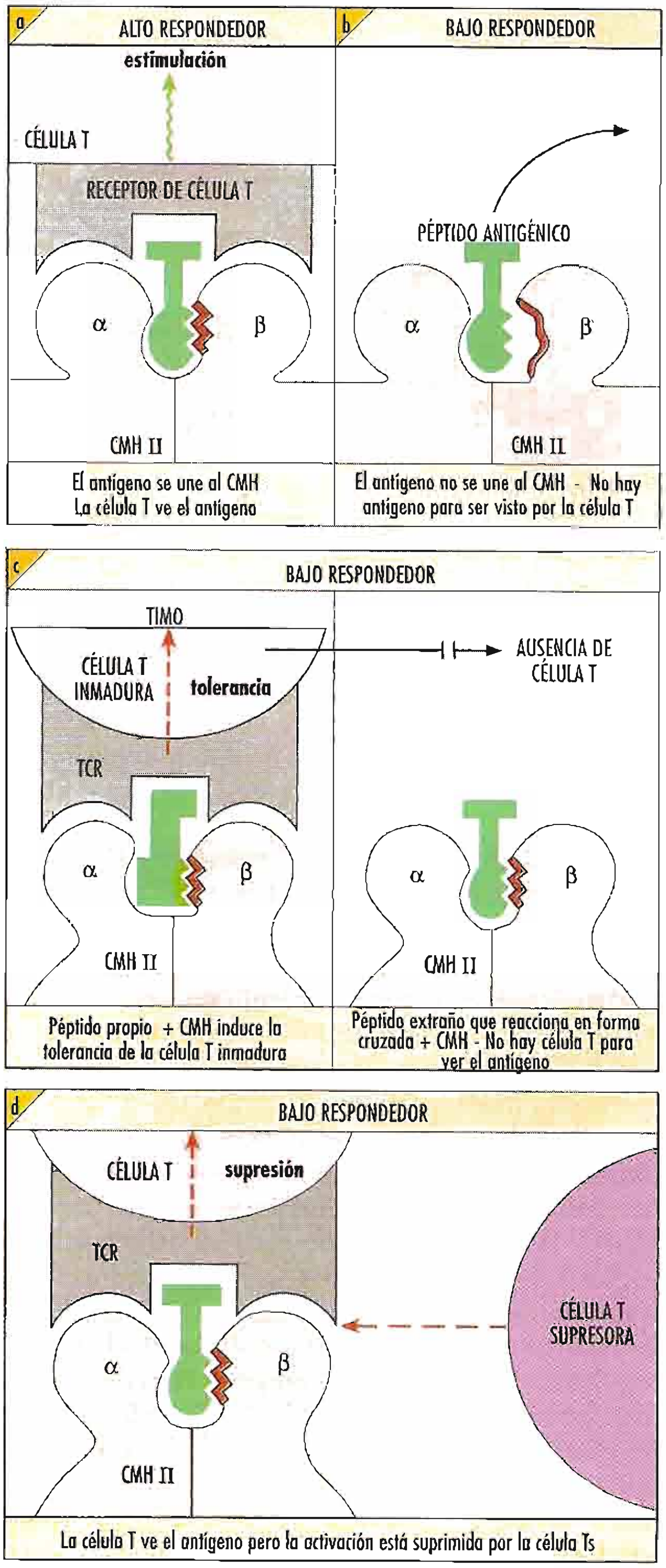

a
ALTO RESPONDEDOR
estimulación
CÉLULA T
RECEPTOR DE CÉLULA T
α
β
CMH II
El antígeno se une al CMH
La célula T ve el antígeno
b
BAJO RESPONDEDOR
PÉPTIDO ANTIGÉNICO
α
β
CMH II
El antígeno no se une al CMH - No hay antígeno para ser visto por la célula T
c
BAJO RESPONDEDOR
TIMO
CÉLULA T INMADURA
tolerancia
TCR
AUSENCIA DE CÉLULA T
α
β
CMH II
α
β
CMH II
Péptido propio + CMH induce la tolerancia de la célula T inmadura
Péptido extraño que reacciona en forma cruzada + CMH - No hay célula T para ver el antígeno
d
BAJO RESPONDEDOR
CÉLULA T
supresión
TCR
CÉLULA T SUPRESORA
α
β
CMH II
La célula T ve el antígeno pero la activación está suprimida por la célula Ts

Fig. 11-17. Diferentes mecanismos pueden explicar la baja respuesta de células T al antígeno en asociación con CMH clase II.

REDES INMUNONEUROENDOCRINAS REGULADORAS

A medida que nos concentramos cada vez más en las bufonadas del sistema inmune, existe el peligro de considerar el organismo como una colección de células mieloides y linfoides vagando en un gran saco y no tener en cuenta la fisiología integrada de éste. Dentro del contexto fisiológico más amplio, se ha llamado cada vez más la atención sobre las interacciones entre los sistemas inmunitario y neuroendocrino.

Las células inmunitarias tienen los receptores que les permiten recibir señales de una amplia gama de hormonas: corticosteroides, insulina, hormona de crecimiento, estradiol, testosterona, prolactina, agentes β-adrenérgicos, acetilcolina, endorfinas y encefalinas. En general, los glucocorticoides y los andrógenos deprimen las respuestas inmunes,

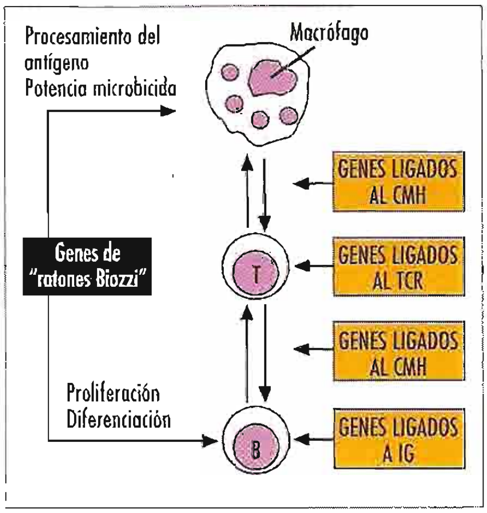


Fig. 11-18. **Control genético de la respuesta inmune.**

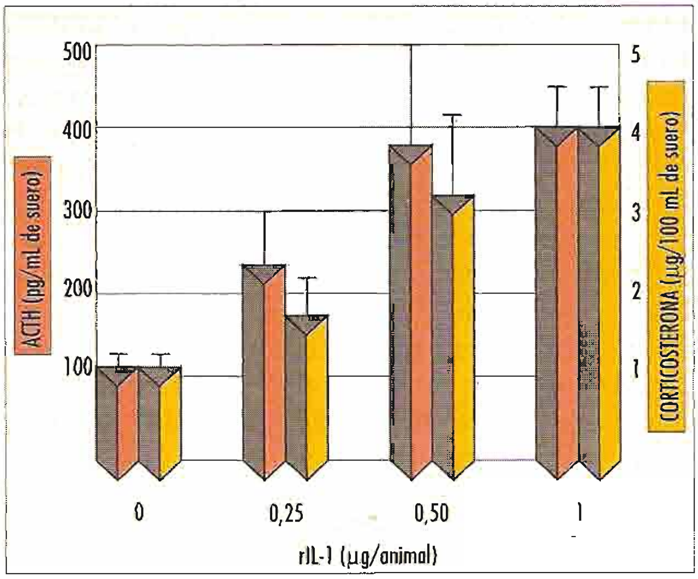


Fig. 11-19. Aumento de los niveles sanguíneos de ACTH y corticosterona en ratones C3H/HeJ 2 horas después de la inyección de IL-1 recombinante (los valores son medias ± SEM para grupos de siete u ocho ratones). La importancia de la cepa de ratón utilizada es que carece de receptores para lipopolisacárido (LPS) bacteriano y, en consecuencia, los efectos no pueden atribuirse a contaminación por LPS de la preparación de IL-1. (Reimpreso de Besedovsky H., del Rey A., Sorkin E., Dinarello C.A. [1986] *Science* 233, 652, con autorización. Copia registrada © 1986 por la AAAS.)

mientras que los estrógenos, la hormona de crecimiento, la tiroxina y la insulina hacen lo opuesto.

Un circuito de retroalimentación neuroendocrina que afecta las respuestas inmunes

La secreción de **glucocorticoides** es una respuesta importante al estrés inducido por una amplia gama de estímulos, como cambios extremos de temperatura, miedo, hambre y lesión física. También son liberados como consecuencia de respuestas inmunes y limitan esas respuestas en un circuito de retroalimentación neuroendocrina. Así, la IL-1 (fig. 11-19), la IL-6 y el TNF son capaces de estimular la síntesis de glucocorticoides y lo hacen a través del eje hipotálamo-hipófisis. Esto, a su vez, conduce a la regulación en menos de la actividad de Th1 y macrófagos, de modo que se completa el circuito de retroalimentación negativa (fig. 11-20). Sin embargo, el glucocorticoide dexametasona puede prevenir la muerte celular inducida por activación en las células T, al inducir la expresión de GILZ (*g*lucocorticoid-*i*nduced *l*eucine *z*ipper - cremallera de leucina inducida por glucocorticoides). Por lo tanto, la situación es algo compleja porque los glucocorticoides por sí solos pueden activar la apoptosis en las células T, aunque contrarrestan la apoptosis activada por la interacción péptido-CMH con el TCR. En ausencia de glucocorticoides, la activación de las células T por péptido-CMH conduce a una pérdida progresiva de GILZ y al final muerte celular por apoptosis. Por el contrario, cuando la activación a través del TCR se produce en presencia de glucocorticoides, entonces la expresión de GILZ aumenta y las células están protegidas de la muerte celular inducida por activación, tal vez a través de un efecto sobre el NFκB.

Se ha demostrado que la suprarrenalectomía previene la recuperación espontánea de la encefalomielitis alérgica experimental, una enfermedad desmielinizante con parálisis progresiva producida por proteína básica de mielina en adyuvante completo de Freund, la cual, sin embargo, se puede bloquear mediante implantes de corticosterona. La recuperación espontánea de esta enfermedad en animales intactos se asocia con una dominancia de clones específicos de autoantígeno Th2, indicadores del punto de vista de que los glucocorticoides suprimen las células Th1 y pueden aumentar las células Th2. Puede esperarse que los individuos con una predisposición genética a altos niveles de glucocorticoides inducidos por estrés fueran más susceptibles a infecciones por patógenos intracelulares, como *Mycobacterium leprae*, que para su erradicación requieren una inmunidad mediada por células Th1 eficaz.

Experimentos recientes demostraron que la exposición neonatal a la endotoxina bacteriana (LPS) no sólo ejerce una influencia prolongada sobre el desarrollo del sistema endocrino y nervioso central, sino que afecta en forma sustancial la predisposición a la enfermedad inflamatoria y, por lo tanto, parece programar o "reiniciar" el desarrollo funcional tanto del sistema endocrino como del inmune. Así, en la vida adulta, las ratas que habían estado expuestas a endotoxina durante la primera semana de vida tuvieron mayores niveles basales de corticosterona que los animales control, además mostraron un aumento mayor de los niveles de corticosterona en respuesta al estrés por ruido y una elevación más rápida en los niveles de corticosterona luego del desafío con LPS.

Las hormonas sexuales entran en escena

Se dice que el estrógeno es el principal factor que influye en las repuestas inmunes más activas en el sexo femenino en relación con el masculino. Las mujeres tienen mayores concentraciones de Ig en suero y de IgA secretada, una mayor respuesta de anticuerpos frente a los antígenos timoindependientes, resistencia relativa a la tolerancia de células T y mayor resistencia a las infecciones. También son mucho más susceptibles a la enfermedad autoinmune, una cuestión que se analizará en mayor profundidad en el capítulo 19, pero aquí destacaremos que los anticonceptivos orales pueden inducir brotes del trastorno autoinmune *l*upus *e*ritematoso *s*istémico (LES; véase pág. 487) y la hormona suprarrenal ligeramente androgénica, **dehidroepiandrosterona (DHEA)**, puede prolongar en forma significativa la expectativa de vida de las hembras F1 (NZB × W) con el modelo murino de LES. La DHEA tiene efectos positivos sobre Th1 a expensas de las células Th2 y pueden antagonizar claramente los efectos inhibidores del cortisol sobre los timocitos y la proliferación de células T. Como se dice en los periódicos sensacionalista, espiemos este espacio.

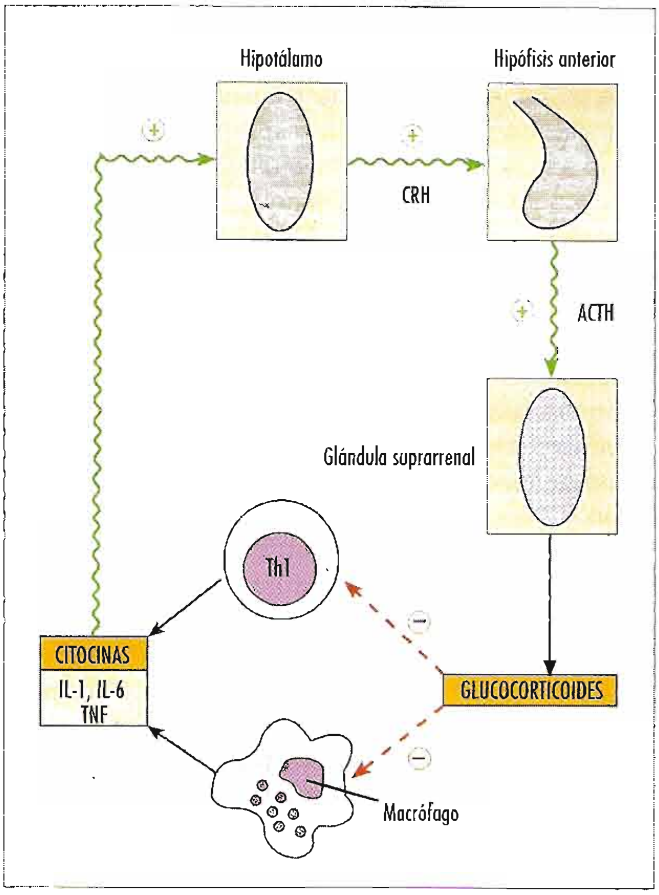


Fig. 11-20. Retroalimentación negativa de los glucocorticoides sobre la producción de citocinas. CRH, hormona liberadora de corticotrofina; ACTH, hormona adrenocorticotrófica. En la figura 11-11 se presentaron evidencias de otro tipo de circuito que comprende receptor hormonal, hormona, antihormona y antiidiotipo de imagen interna, y puede tener relevancia en la patogenia de los trastornos autoinmunes dirigidos contra los receptores hormonales (véase pág 484). Con mayor asiduidad las células del sistema inmune de los órganos linfoides primarios y secundarios pueden producir hormonas y neuropéptidos, mientras que las glándulas endocrinas clásicas así como las neuronas y las células neurogliales pueden sintetizar citocinas y receptores apropiados. Vale la pena destacar la producción de prolactina y sus receptores por las células linfoideas periféricas y los timocitos. La expresión del receptor para prolactina en los linfocitos es regulada en más luego de la activación y, en la enfermedad autoinmune, atestigua los efectos beneficiosos de la bromocriptina, un inhibidor de la síntesis de prolactina en el modelo NZB × W de LES murino (véase pág. 457).

"Psicoinmunología"

El timo, el bazo y los ganglios linfáticos están ricamente inervados por el sistema nervioso simpático. La enzima dopamina β-hidroxilasa cataliza la conversión de dopamina en el neurotransmisor catecolamínico noradrenalina, que es liberada de las neuronas simpáticas en estos tejidos. Los ratones en los que se produjo la deleción de esta enzima por recombinación homóloga fueron más susceptibles a la infección por el patógeno intracelular *Mycobacterium tuberculosis* y en ellos hubo un mayor deterioro de la producción de las citocionas de Th1 IFNγ y TNF en respuesta contra la infección. Aunque estos animales no mostraron defectos obvios del desarrollo en su sistema inmune, también se observó un deterioro de las respuestas Th1 luego de su inmunización con el hapteno TNP acoplado a KLH. Estas observaciones sugieren que la noradrenalina puede desempeñar un papel en la determinación de la potencia de la respuesta inmune.

La piel desnervada muestra una infiltración leucocitaria muy reducida en respuesta al daño local, lo que relaciona las neuronas cutáneas con el reclutamiento de leucocitos. Los nervios simpáticos que inervan los vasos y ganglios linfáticos están involucrados en la regulación del flujo de linfa y pueden participar en el control de la migración de las células dendríticas que tienen receptores β-adrenérgicos desde los sitios inflamatorios hasta los ganglios linfáticos locales. Los mastocitos y los nervios a menudo tienen una relación anatómica íntima y el factor de crecimiento nervioso produce desgranulación de los mastocitos. El tracto gastrointestinal también tiene una inervación extensa y una cantidad elevada de células efectoras inmunes. En este contexto, la capacidad de la sustancia P para estimular la proliferación de los linfocitos de las placas de Peyer y de la somatostatina para inhibirla pueden tener más que una importancia trivial. La hormona hipofisaria prolactina también ha sido centro de nuestra atención debido a la observación experimental de que la inhibición de la secreción de prolactina por la bromocriptina suprime la actividad de las células Th.

Al parecer hay una interacción entre inflamación y crecimiento nervioso en las regiones de cicatrización y reparación de heridas. En explantes de nervio ciático a menudo abundan los mastocitos, la IL-6 induce crecimiento de neuritas y la IL-1 aumenta la producción de factor de crecimiento nervioso. La IL-1 también aumenta el sueño de ondas lentas cuando es introducida en el ventrículo lateral del encéfalo y tanto la IL-1 como el interferón producen efectos pirógenos a través de su acción sobre el centro que controla la temperatura.

Aunque no está claro de qué modo estos diversos efectos neuroendocrinos encajan en la regulación de las respuestas inmunes, en un nivel más fisiológico el estrés y los ritmos circadianos modifican el funcionamiento del sistema inmune. Se ha observado que factores como las sujeciones, el ruido y la ansiedad del examen influyen en algunas funciones inmunes, entre los que se incluyen fagocitosis, proliferación de linfocitos, actividad de células NK y secreción de IgA. Es sorprendente que la reacción de Mantoux, de hipersensibilidad de tipo retardado en la piel, pueda modificarse por hipnosis. Una demostración elegante del control del sistema nervioso es provista por los estudios que muestran la supresión de las respuestas inmunes convencionales y el refuerzo de la actividad de las células NK por el condicionamiento de Pavlov. En el paradigma clásico de Pavlov, un estímulo como el alimento, que incondicionalmente produce una respuesta particular, en este caso salivación, se aparea repetidas veces con un estímulo neutro que no produce la misma respuesta. Por último, el estímulo neutro se convierte en un estímulo condicional y produce salivación en ausencia de alimentos. Se administró a ratas repetidas veces ciclofosfamida como estímulo incondicional y sacarina como estímulo condicional; con ulterioridad hubo una menor respuesta de anticuerpos cuando los animales fueron expuestos a un antígeno solo con el agregado del estímulo condicional, la sacarina. A medida que se acumulan más y más datos, está más claro de qué modo las redes neuroendocrinas podrían desempeñar un papel en la alergia y en enfermedades autoinmunes como la artritis reumatoidea, la diabetes mellitus insulinodependiente y la esclerosis múltiple.

EFECTOS DE LA DIETA, EL EJERCICIO, EL TRAUMATISMO Y LA EDAD SOBRE LA INMUNIDAD

La desnutrición disminuye la eficacia de la respuesta inmune

La susceptibilidad muy aumentada de los individuos desnutridos a la infección puede atribuirse a muchos factores: malas condiciones sanitarias y de higiene personal, hacinamiento y educación inadecuada en salud. No obstante, existen efectos importantes de la **desnutrición caloricoproteica** sobre la inmunocompetencia. La atrofia difusa de los tejidos linfoides y la reducción del 50% en las células T CD4 circulantes subyacen a un **deterioro grave de la inmunidad celular.** Las respuestas de anticuerpos pueden estar intactas pero son de menor afinidad; la fagocitosis de las bacterias es relativamente normal, pero la destrucción intracelular ulterior es defectuosa.

Las deficiencias de piridoxina, ácido fólico y vitaminas A, C y E suelen provocar un deterioro de las respuestas inmunes. **La vitamina D es un regulador importante**. Es producida no sólo por la dermis irradiada por rayos UV, sino también por los macrófagos activados, asimismo, la hipercalcemia asociada con sarcoidosis es atribuible a la producción de la vitamina por los macrófagos en los granulomas activos. La vitamina es un inhibidor potente de la proliferación de las células T y de la producción de las citocinas Th1. Esto genera un circuito de retroalimentación impecable en los sitios de inflamación donde los macrófagos activados por

IFNγ producen vitamina D que suprime las células T que elaboran el interferón. También regula en menos la presentación de antígenos por los macrófagos y estimula la formación de células gigantes multinucleadas en las lesiones granulomatosas crónicas. No obstante, como mayor énfasis de la dualidad potencial de las subpoblaciones de células T helper CD4, promueve la actividad de Th2, en especial en las superficies mucosas: una pequeña vitamina atareada. La deficiencia de cinc es algo interesante; afecta en gran medida la actividad biológica de las hormonas del timo y tiene un efecto importante sobre la inmunidad celular, tal vez como una consecuencia. La deficiencia de hierro deteriora el estallido oxidativo en los neutrófilos, dado que la flavocitocromo NADP oxidasa es una enzima que contiene hierro.

Por supuesto, hay otro lado de todo esto, ya que la restricción moderada del ingreso calórico total, o la reducción pronunciada en el ingreso de grasas, o ambas mejoran las enfermedades relacionadas con la edad, como la autoinmunidad. Los aceites con un enlace doble *n*-3, como los de pescado, también son protectores, tal vez debido a una mayor síntesis de prostaglandinas inmunosupresoras.

La sensibilidad esperada a la importancia de la contaminación ambiental otorga importancia al control de la naturaleza y los niveles de polución que pueden influir en la inmunidad. Éste es sólo un ejemplo: los compuestos orgánicos polihalogenados (como bifenilos policlorados) invaden de manera constante el medio ambiente y, al ser estables y lipofílicos, se acumulan con facilidad en la cadena de alimentos acuáticos donde en gran parte resisten la degradación metabólica. Se demostró que los arenques del Báltico con niveles relativamente altos de estos contaminantes, comparados con los del Atlántico no contaminados, eran inmunotóxicos cuando se alimentaba con ellos a focas de puerto cautivas, lo que sugiere por qué a lo largo de las costas del noroeste de Europa las focas sucumbieron de forma tan alarmante a la infección por el virus del moquillo de las focas, por otra parte no virulento, en 1988.

Otros factores

El **ejercicio**, sobre todo el que se realiza con intensidad induce estrés y eleva las concentraciones plasmáticas de cortisol, catecolaminas, IFNα, IL-1, β-endorfina y metaencefalina. Puede conducir a niveles reducidos de IgA, inmunodeficiencia y mayor susceptibilidad a la infección. Maníacos del ejercicio y otros masoquistas similares; ¡están advertidos!

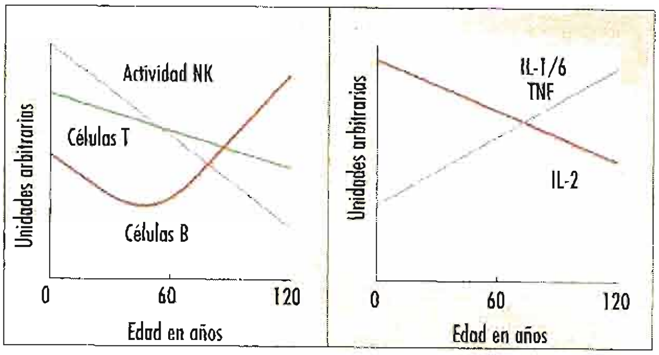


Fig. 11-21. Tendencias con la edad en algunos parámetros inmunitarios. (Basado en Franceschi C., Monti D., Sansoni P. y Cossarizza A. [1995] *Immunology Today* 16, 12.)

La **lesión traumática múltiple**, la cirugía y las quemaduras importantes también son inmunosupresoras y contribuyen así al mayor riesgo de sepsis. Los corticosteroides producidos por trastornos estresantes, la prostaglandina E_2 inmunosupresora liberada de los tejidos dañados y la endotoxina bacteriana derivada de la alteración de la flora intestinal son todos factores que influyen en el resultado después de un traumatismo.

Si se acepta que el problema del conocimiento de los mecanismos del **envejecimiento** es una nuez dura de romper, es un poco desalentador que la tarea más fácil de establecer la influencia de la edad sobre los fenómenos inmunes no se haya logrado aún en forma satisfactoria. Tal vez la población anciana está desviada hacia individuos con sistemas inmunes eficaces que tienen una ventaja en la supervivencia. Como sea, la producción de IL-2 por los linfocitos en sangre periférica (fig. 11-21) y las funciones mediadas por las células T como las reacciones de hipersensibilidad retardada contra antígenos comunes de pruebas cutáneas declinan con la edad y se cree que también lo hace la supresión por las células T, aunque es una función notoriamente difícil de medir.

La mayoría de las respuestas de las células B a los antígenos exógenos no se modifican de manera espectacular con el paso del tiempo, pero una de las pocas observaciones bien fundadas se relaciona con el aumento relativo de los agalactosil oligosacáridos sobre los dominios Cγ2 de IgG (véase pág. 493) en forma simultánea con una elevación de la IL-6 en los grupos de edad mayor (fig. 11-21). Esto se acompaña por una disminución de la DHEA, y puede ser importante que la inyección del andrógeno en ratones seniles conduce a una caída en las concentraciones de IL-6 circulante. ¿Estos estudios proporcionan un indicio de la mayor prevalencia de autoanticuerpos en nuestros ciudadanos mayores?

RESUMEN

Control por el antígeno

- Las respuestas inmunes están inducidas en gran parte por el antígeno. A medida que disminuye el nivel de antígeno, también lo hace la intensidad de la respuesta.
- Los antígenos pueden competir entre sí: resultado de la competición entre los péptidos procesados por la ranura disponibles del CMH.

Control por retroalimentación por el complemento y los anticuerpos

- Los anticuerpos IgM tempranos y el C3d refuerzan las respuestas de anticuerpos, mientras que la IgG inhibe las respuestas por medio del receptor Fcγ sobre las células B.

Regulación de las células T

- Las células T activadas expresan miembros de la familia de receptores para TNF, entre los que se incluyen Fas, que actúan como receptores de muerte y restringen la expansión clonal ilimitada por un proceso denominado muerte celular inducida por activación.
- Con niveles altos de antígeno, se presume que las células T que suprimen a las células T helper surgen como control por retroalimentación de la expansión excesiva de Th.
- Los epítopos supresores y helper sobre la misma molécula pueden ser distintos.
- En algunos casos de supresión, los efectores son células T CD8 restringidas en forma directa (lo que sería extraño) o indirecta mediante un intermediario CD4.
- La supresión bien puede deberse a interacción T-T sobre la superficie de las células presentadoras de antígeno. Al igual que las células Th1 y Th2 se inhiben mutuamente mediante la producción de sus citocinas respectivas IFNγ e IL-4/10, pueden existir dos tipos de células CD8 con actividad supresora: una del tipo Tc2 hallada en pacientes con lepra lepromatosa que elaboran IL-4 y que suprimen las células Th1, y las otras células Tc1 que elaboran IFNγ capaz de suprimir a las células Th2.

Redes de idiotipos

- Los receptores específicos de antígeno sobre los linfocitos pueden interactuar con los idiotipos sobre los receptores de otros linfocitos para formar una red (Jerne).
- Los antiidiotipos pueden ser inducidos por idiotipos autólogos.
- En la vida temprana puede apreciarse una red de idiotipos que comprende a la mayoría de las células B-1 CD5.
- También pueden demostrarse interacciones idiotípicas de células T.
- Las redes idiotípicas preestablecidas comprenden algunos linfocitos con autorreactividad para autoantígenos dominantes. Se especula que esta preocupación con lo propio ayuda a regular las reacciones autoinmunes no deseadas y puede ayudar a dirigir la respuesta contra antígenos infecciosos sobre antígenos conservados dominantes, como la hsp65, que reaccionan en forma cruzada con la propia.
- Los idiotipos que se presentan con frecuencia y son compartidos por numerosos anticuerpos (idiotipo público o de reacción cruzada) son blancos para la regulación por antiidiotipos en la red, lo que proporciona así otro mecanismo para el control de la respuesta inmune.
- La red ofrece el potencial para la intervención terapéutica para manipular la inmunidad.

Los factores genéticos influyen en la respuesta inmune

- Alrededor de 10 genes controlan la respuesta global de anticuerpos contra antígenos complejos: algunos afectan el procesamiento de los antígenos y la actividad microbicida de los macrófagos, y otros el índice de proliferación de las células B en diferenciación.
- Los genes de inmunoglobulinas y TCR son muy adaptables porque se reordenan para crear los receptores de antígenos, pero pueden aparecer "agujeros" en el repertorio.
- Los genes de la respuesta inmune se localizan en el locus del CMH clase II y controlan las interacciones necesarias para la colaboración T-B.
- La capacidad de respuesta es alta y baja relacionada a la clase II puede deberse a una presentación defectuosa por el CMH, un repertorio defectuoso de células T causado por tolerancia a CMH más péptidos propios y a supresión por células T.

Redes inmunoneuroendocrinas

- Los sistemas inmunitario, neurológico y endocrinológico interactúan para formar circuitos reguladores.
- La retroalimentación por las citocinas aumenta la producción de corticosteroides y es importante porque limita la actividad de Th1 y macrófagos.
- Los estrógenos pueden ser en gran parte responsables de las respuestas inmunes más activas en el sexo femenino en relación con el masculino. La hormona masculina, DHEA, prolonga la vida en las hembras con el equivalente murino de la enfermedad autoinmune humana LES.

Efectos de la dieta y otros factores sobre la inmunidad

- La desnutrición caloricoproteica deteriora en gran medida la inmunidad celular y el poder microbicida de los fagocitos.
- El ejercicio, el traumatismo, la edad y la contaminación ambiental pueden actuar para deteriorar los mecanismos inmunes. El patrón de citocinas producidos por las células en sangre periférica cambia con la edad, IL-2 disminuye y TNF, IL-1 e IL-6 aumentan; la última se asocia con un nivel reducido de DHEA.

Factores que influyen en el sesgo entre las subpoblaciones Th1 y Th2

- Éstos figuraron con cierta prominencia en este capítulo y en la figura 11-22 se presenta un resumen de algunas de las principales influencias sobre el equilibrio entre las respuestas Th1 y Th2.

Véanse preguntas de opciones múltiples en el sitio web correspondiente (www.roitt.com)

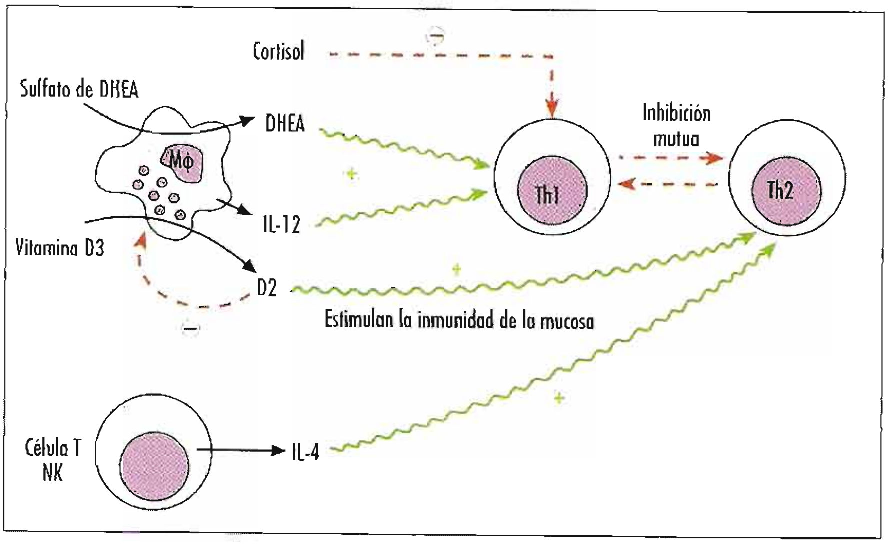


Fig. 11-22. Resumen de los factores principales que afectan el equilibrio Th1/Th2. La posible estimulación preferencial de la síntesis de anticuerpos de las mucosas por la vitamina D involucra la promoción de la migración de las células dendríticas hasta las placas de Peyer. Mediante la actividad reguladora negativa de los macrófagos, disminuye la eficacia de Th1. El cortisol y la dehidroepiandrosterona (DHEA) son productos de la glándula suprarrenal y tienen efectos opuestos sobre la subpoblación Th1. Una deficiencia relativa de DHEA conduce a un rendimiento escaso de Th1. Las células T NK tienen un TCR αβ, el marcador de las células natural killer NK1.1, y secretan citocinas, entre las que se incluyen IL-4, que estimulan las células Th2.

CAPÍTULO 12

Ontogenia y filogenia

www.el12cirujano.blogspot.com/

Introducción, 249
Células madre hematopoyéticas, 249
El timo proporciona el ambiente para la diferenciación de las células T, 251
  Las células madre de médula ósea se transforman en células T inmunocompetentes en el timo, 254
Ontogenia de las células T, 254
  La diferenciación se acompaña por cambios en los marcadores de superficie, 254
  Reordenamiento del receptor, 254
  Las células se seleccionan de modo positivo para la restricción del propio CMH en el timo, 257
Tolerancia de las células T, 258
  La inducción de tolerancia inmunitaria es necesaria para evitar la autorreactividad, 258
  La autotolerancia puede inducirse en el timo, 259
  La deleción clonal intratímica conduce a la autotolerancia, 259
  La tolerancia de células T también puede deberse a anergia clonal, 262
  La falta de comunicación puede causar incapacidad de respuesta, 263
Las células B se diferencian en el hígado fetal y luego en la médula ósea, 265
  Pax5 es un factor determinante importante en la diferenciación de células B, 265
Las células B-1 y B-2 representan dos poblaciones distintas, 267
Desarrollo de la especificidad de células B, 268
  Secuencia de reordenamientos del gen inmunoglobulina, 268
  La importancia de la exclusión alélica, 270
  Respuestas específicas diferentes pueden aparecer de manera secuencial, 271
Inducción de tolerancia en los linfocitos B, 271
  La tolerancia puede ser causada por deleción y anergia clonales, 271
  La tolerancia puede ser resultado de células de B carentes de cooperación, 272
Ontogenia de las células natural killer (NK), 273
Respuesta global en el neonato, 273
Evolución de la respuesta inmune, 274
  Los invertebrados poseen mecanismos de defensa antimicrobianos, 274
  Las respuestas inmunes adaptativas aparecen con los vertebrados, 275
La evolución de los distintos linajes de células T y B se acompañó del desarrollo de sitios separados para la diferenciación, 276
Las moléculas de reconocimiento celulares se aprovechan de la superfamilia del gen de inmunoglobulina, 276
Resumen, 278
Lecturas adicionales, 280

INTRODUCCIÓN

La hematopoyesis se origina en el saco vitelino primitivo pero, a medida que avanza la embriogénesis, esta función la realiza el hígado fetal y por último la médula ósea, donde continúa durante toda la vida. Se demostró que la **célula madre (stem cell) hematopoyética que da lugar a los elementos formes de la sangre** (fig. 12-1) es multipotencial, coloniza otros órganos y posee una capacidad relativamente ilimitada de renovación por medio de la creación de células madre adicionales. Por esto, un animal puede estar protegido por completo contra los efectos letales de dosis elevadas de irradiación mediante la inoculación de células de médula ósea que repoblarán sus sistemas linfoide y mieloide. La capacidad para la autorrenovación no es absoluta y declina con la edad en forma simultánea con un acortamiento de los telómeros y una reducción en la telomerasa, la enzima que repara el acortamiento de los extremos de los cromosomas que, de otro modo, se producirían en cada ciclo de división celular.

CÉLULAS MADRE HEMATOPOYÉTICAS

Recorrimos un largo camino hacia el objetivo de aislar poblaciones muy purificadas de células madre hematopoyéticas, aunque no todos están de acuerdo en que ya lo logramos. En el ratón, la candidata más probable, al menos una de las *primeras* progenitoras, es la célula con el siguiente fenotipo de superficie: alta expresión del CMH, baja positividad para Thy 1, claramente positiva para Sca-1, AA4.1 y c-kit, y para la molécula de adhesión PGP-1, negativa o sólo positiva débil para Lin y negativa para B220, Mac-1, Gr-1 y CD8 (los últimos cuatro son marcadores para las células B, macrófagos, granulocitos y células T citotóxicas, respectivamente). Resulta impresionante que menos de 100 de estas células previenen la muerte en un animal que recibe una irradiación letal. En los últimos tiempos se obtuvo un "fenotipo molecular" de la célula madre del ratón por análisis de bibliotecas de cDNA sustraído a partir de células madre del hígado fetal altamente purificadas. Se reveló que hay un grado muy elevado de precisión en el control de transcripción en cada estadio de la jerarquía hematopoyética. Ciertas moléculas son más predominantes, ya

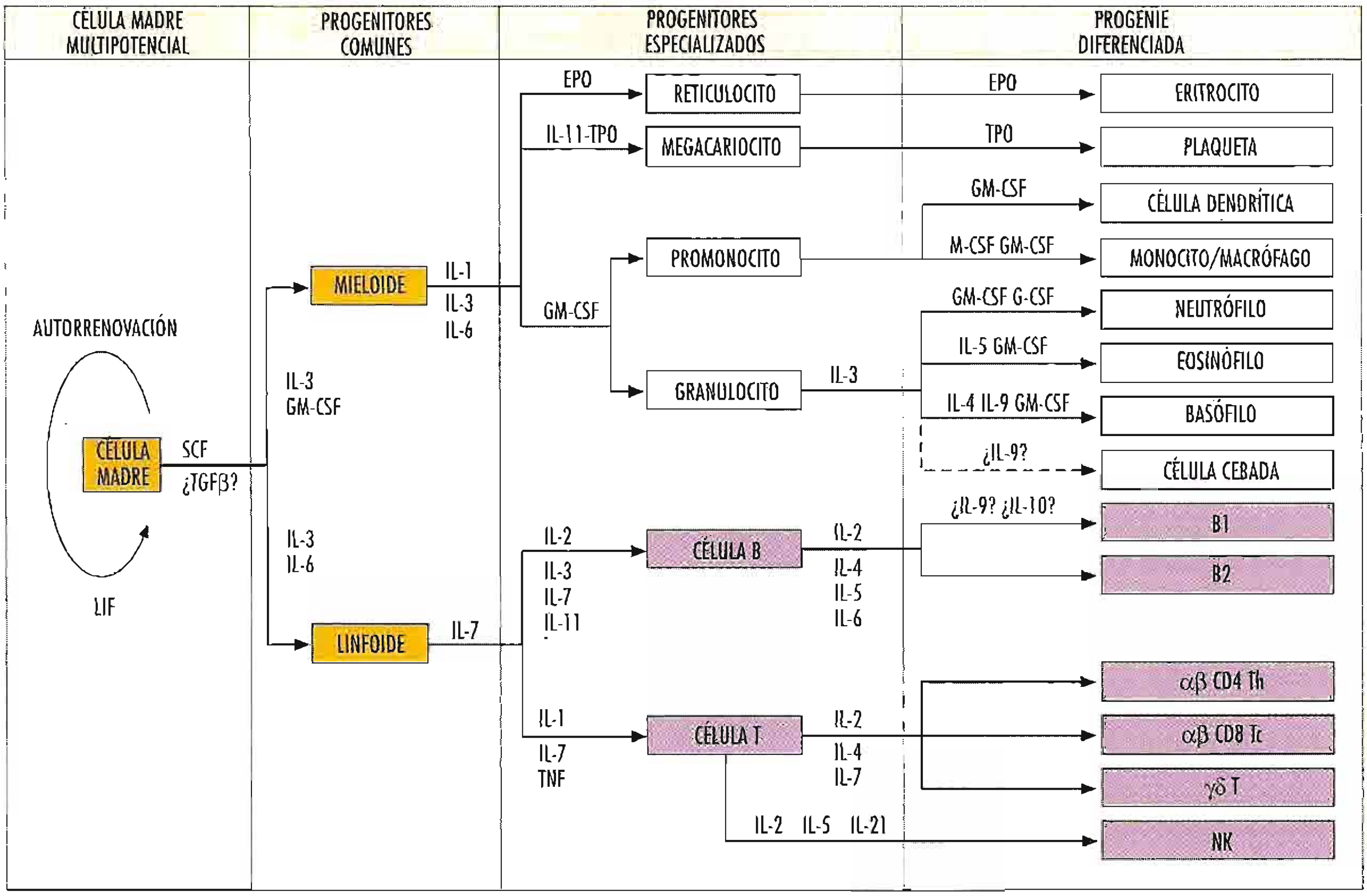

CÉLULA MADRE MULTIPOTENCIAL
PROGENITORES COMUNES
PROGENITORES ESPECIALIZADOS
PROGENIE DIFERENCIADA
AUTORRENOVACIÓN
CÉLULA MADRE
SCF
¿TGFβ?
LIF
IL-3
GM-CSF
IL-3
IL-6
MIELOIDE
LINFOIDE
IL-1
IL-3
IL-6
IL-7
EPO
IL-11-TPO
GM-CSF
RETICULOCITO
MEGACARIOCITO
PROMONOCITO
GRANULOCITO
IL-3
IL-2
IL-3
IL-7
IL-11
CÉLULA B
IL-1
IL-7
TNF
CÉLULA T
IL-2
IL-4
IL-5
IL-6
IL-2
IL-4
IL-7
IL-2 IL-5 IL-21
EPO
TPO
GM-CSF
M-CSF GM-CSF
GM-CSF G-CSF
IL-5 GM-CSF
IL-4 IL-9 GM-CSF
¿IL-9?
¿IL-9? ¿IL-10?
ERITROCITO
PLAQUETA
CÉLULA DENDRÍTICA
MONOCITO/MACRÓFAGO
NEUTRÓFILO
EOSINÓFILO
BASÓFILO
CÉLULA CEBADA
B1
B2
αβ CD4 Th
αβ CD8 Tc
γδ T
NK

Fig. 12-1. Célula hematopoyética multipotencial y su progenie, cuya diferenciación está bajo la influencia de una serie de factores de crecimiento solubles en el microambiente de la médula ósea. La expresión de los diversos factores de transcripción nuclear dirige el proceso de diferenciación. Por ejemplo, el gen *Ikaros* codifica un factor de transcripción con digitaciones para el cinc, crítico para inducir el desarrollo de un precursor mieloide-/linfoide común en un progenitor linfoide-restringido que da lugar a células T, B y NK. SCF, factor de célula madre (stem cell factor); LIF, factor inhibitorio de leucemia; IL- 3, interleucina 3, a menudo denominada multi-CSF porque estimula los progenitores de plaquetas, eritrocitos, todos los tipos de células mieloides y también los progenitores de células B, pero no de células T; GM-CSF, factor estimulador de colonias de granulocitos macrófagos, denominado así debido a que estimula la formación de colonias mixtas de estos dos tipos celulares a partir de los progenitores de médula ósea, ya sea en cultivos de tejidos o en la transferencia a un receptor irradiado donde aparecen en el bazo; G-CSF, factor estimulador de colonias de granulocitos; M-CSF, factor estimulador de colonias de monocitos; EPO, eritropoyetina; TPO, trombopoyetina; TNF, factor de necrosis tumoral; TGFβ, factor de crecimiento en transformación β.

sea en las células madre hematopoyéticas fetales o adultas, y se obtuvieron evidencias que apoyan el papel importante del TGFβ en el control de la hematopoyesis. De manera similar, la expresión de Notch-1, nuestro viejo amigo NFκB y los genes maravillosamente denominados Manic Fringe y Dishevelled-1 subrayan la importancia de la vía de señalización Notch en el desarrollo hematopoyético. Por último, gran cantidad de genes para las moléculas de adhesión celular está presente en las bibliotecas del cDNA, incluso varios que implican a los miembros de la familia semaforina en la célula madre guía ("homing"). En el ser humano, el CD34 es un marcador de una célula en extremo primitiva pero, de nuevo, hay cierto debate acerca de si esto identifica la célula madre pluripotente pura en sí.

Las células madre se diferencian dentro del microambiente de las células de la estroma sésil que producen varios factores de crecimiento, como IL-3, IL-4, IL-6 e IL-7, GM-CSF y así sucesivamente. La importancia de esta interacción entre las células madre no diferenciadas y el microambiente que guía su diferenciación se muestra con claridad en estudios en ratones homocigotos por mutaciones en los locus *w* o *sl* que, entre otros defectos, presentan anemia macrocítica severa. Las células de la estroma de la médula ósea producen el factor de células madre (SCF), que permanece asociado con la matriz extracelular y actúa en las células madre primitivas mediante un receptor tirosina cinasa de membrana, c-kit (CD117). Las mutantes *sl*/*sl* poseen células madre normales pero producción defectiva de la estro-

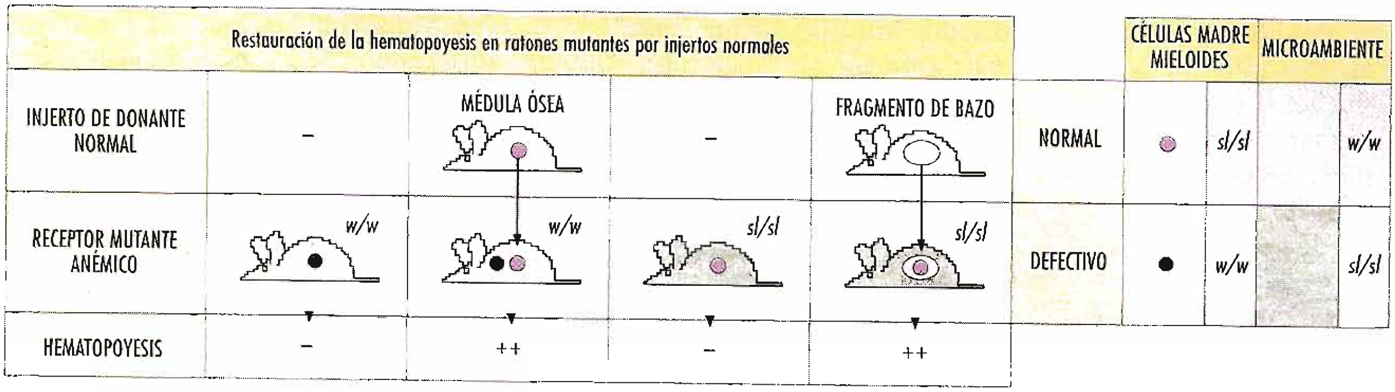


Fig. 12-2. La hematopoyesis requiere que las células madre de médula ósea normal se diferencien en un microambiente normal. El locus *w* codifica para c-kit, un receptor tirosina cinasa de membrana de la célula madre para el factor de célula madre (SCF) codificado por el locus *sl*. Los ratones homocigóticos para alelos mutantes en estos locus desarrollan anemia macrocítica severa que puede corregirse por el trasplante de células normales apropiadas. Los experimentos muestran que la mutante *w/w* carece de células madre normales y la mutante *sl/sl* carece del factor medioambiental, necesarios para su desarrollo.

ma de SCF, que puede corregirse por el trasplante de un fragmento de bazo normal; la mutante *w/w* de los progenitores mieloides carece del receptor de superficie c-kit para SCF, y así puede restaurarse mediante la inyección de células normales de médula ósea (fig. 12-2).

Los ratones con inmunodeficiencia combinada grave (SCID) proporcionan un medio apto para los fragmentos de hígado y timo fetal humano, que, si se implantan de manera contigua, producirán los elementos formes de la sangre durante 6-12 meses. El hígado fetal proporciona una fuente de células madre hematopoyéticas; pero, ¿cuál es el papel del timo?

EL TIMO PROPORCIONA EL AMBIENTE PARA LA DIFERENCIACIÓN DE LAS CÉLULAS T

El timo está organizado en una serie de lóbulos sobre la base de mallas de células epiteliales derivadas embriológicamente de evaginaciones del endodermo intestinal de la tercera bolsa faríngea, y que forman zonas corticales y medulares bien definidas (fig. 12-3). Este armazón de células epiteliales proporciona el microambiente para la diferenciación de las células T. Hay interacciones sutiles entre las proteínas de matriz extracelular y una variedad de integrinas en diferentes subpoblaciones de linfocitos producidas por empalme diferencial y glucosilación postraduccional; en la actualidad se cree que la expresión de estas integrinas, junto con la quimiocina y la expresión del receptor quimiocina (véase cuadro 10-3), desempeñan un papel en la guía de los progenitores hacia el timo y su migración posterior dentro de él. Además, las células epiteliales producen una serie de hormonas peptídicas que en su mayor parte parecen capaces de promover la aparición de marcadores de la diferenciación de células T y una diversidad de funciones de esas células T en cultivos con células de médula ósea in vitro. Algunas se caracterizaron y secuenciaron bien, e incluyen timulina, timosina α_1, factor humoral tímico (THF) y timopoyetina (y su pentapéptido timopontina, TP-5). De éstas, sólo la timulina es de origen tímico exclusivo. Este nonapéptido dependiente del cinc tiende a normalizar el equilibrio de las respuestas inmunes: restaura la avidez del anticuerpo y la producción de anticuerpos en los ratones viejos y aun estimula la actividad supresora en los animales con anemia hemolítica autoinmune inducida por reacción cruzada con glóbulos rojos de rata (véase pág. 476). La timulina puede parecerse a una hormona verdadera, secretada por el timo de un modo regulado y actúa a distancia del timo como un inmunorregulador fisiológico delicado que contribuye con el mantenimiento de la homeostasis de la subpoblación de células T.

Las grandes células epiteliales especializadas en la corteza externa, conocidas como "células nodriza", se asocian con grandes cantidades de linfocitos que yacen dentro de los bolsillos producidos por las extensiones largas de la membrana de estas células epiteliales. Las células epiteliales de la corteza profunda presentan prolongaciones dendríticas ramificadas, con alto contenido de moléculas clase II del CMH, y se conectan mediante uniones

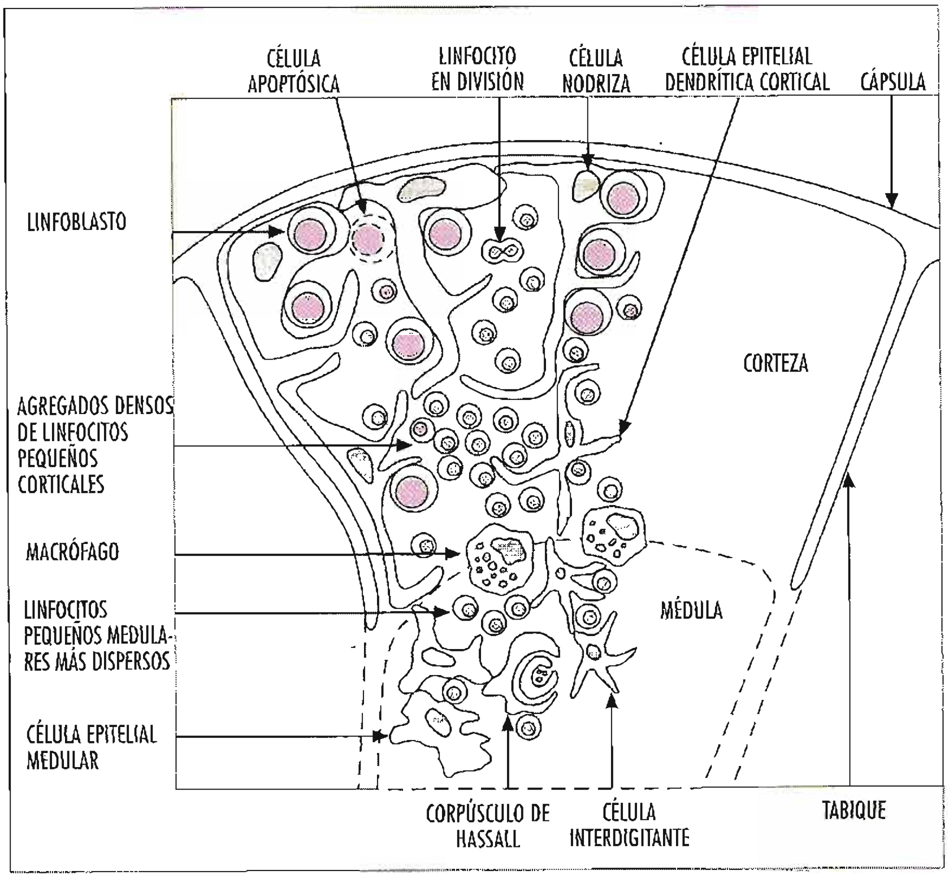

CÉLULA APOPTÓSICA
LINFOCITO EN DIVISIÓN
CÉLULA NODRIZA
CÉLULA EPITELIAL DENDRÍTICA CORTICAL
CÁPSULA
LINFOBLASTO
CORTEZA
AGREGADOS DENSOS DE LINFOCITOS PEQUEÑOS CORTICALES
MACRÓFAGO
LINFOCITOS PEQUEÑOS MEDULARES MÁS DISPERSOS
MÉDULA
CÉLULA EPITELIAL MEDULAR
CORPÚSCULO DE HASSALL
CÉLULA INTERDIGITANTE
TABIQUE

Fig. 12-3. Características celulares de un lóbulo tímico. Véase el texto para la descripción. (Adaptado de Hood LE, Weissman IL, Wood WB, Wilson JH [1984] *Immunology*, 2nd ed., pág. 261. Benjamin Cummings, California.)

celulares desmosómicas para formar una red a través de la que deben pasar los linfocitos corticales en su camino a la médula (fig. 12-3). Los linfocitos corticales se encuentran densamente compactados cuando se los compara con los de la médula, muchos están en división y gran cantidad está sufriendo apoptosis. En su camino a la médula, los linfocitos atraviesan un cordón de macrófagos "centinela" en la unión corticomedular. Varias células dendríticas interdigitantes derivadas de la médula ósea están presentes en la médula y las células epiteliales presentan prolongaciones más amplias que sus equivalentes corticales, y expresan niveles elevados de moléculas clases I y II del CMH. Las células verticiladas queratinizadas epiteliales en la médula forman los tan característicos corpúsculos del Hassall, muy apreciados por los anatomopatólogos. Estas estructuras pueden servir como sistema de distribución para los timocitos agonizantes y pueden ser el único sitio donde se encuentran las células apoptósicas en la médula. La presencia de HLA-DO y HLA-DM, moléculas que median el intercambio intracelular de péptidos, en las células epiteliales que cercan los corpúsculos de Hassall, sugiere que también pueden desempeñar un papel en la activación, la tolerancia o ambas de los timocitos maduros, en particular dado que estas células epiteliales también expresan la molécula HLA-DR presentadora del péptido.

Aún queda por descubrir una relación bastante compleja con el sistema nervioso; el timo presenta una rica inervación con fibras adrenérgicas y colinérgicas, mientras se sintetizan de manera endógena neurotransmisores como oxitocina, vasopresina y neurofisina por acción de las células epiteliales subcapsulares, perivasculares y medulares, y las células nodrizas. El estrés agudo conduce a una pérdida en extremo rápida de timocitos corticales y a un aumento de las células epiteliales que expresan los marcadores tanto corticales como medulares –¿ciertamente células madre epiteliales intratímicas?–. La destrucción de los timocitos corticales se debe al menos en parte a la acción citolítica de los esteroides, la invulnerabilidad relativa de los linfocitos medulares que se atribuye a que poseen una

20α-hidroxilo esteroide deshidrogenasa. La naturaleza distintiva de los dos compartimientos principales en la glándula se remarca por la atrofia selectiva inducida por ciertos agentes; así, el blanco primario de la organotina es el timocito cortical inmaduro. La dioxina interactúa con un receptor en las células epiteliales corticales, mientras que el fármaco inmunosupresor ciclosporina A produce atrofia de los elementos medulares, lo que en consecuencia bloquea la diferenciación de los timocitos corticales a medulares.

En los seres humanos, la involución del timo comienza dentro de los primeros 12 meses de vida, reduce su tamaño un 3% por año hasta la edad madura y luego alrededor del 1%. El tamaño del órgano no brinda ningún indicio de estos cambios porque se reemplaza por tejido adiposo. En cierto sentido, se puede prescindir de modo progresivo del timo porque, como veremos, establece una mezcla de células T periféricas de larga duración que le permite al huésped resistir la pérdida de la glándula sin una insuficiencia catastrófica de la función inmune; prueba de esto son los efectos mínimos de la timectomía en el adulto comparado con la **influencia dramática en el neonato** (hito 12-1). No obstante, el timo adulto retiene un residuo de tejido corticomedular que contiene subpoblaciones de timocitos con un amplio espectro de reordenamientos del gen TCR. Los pacientes adultos que reciben ya sea médula ósea deplecionada de células T o células madre hematopoyéticas de sangre periférica luego de la terapéutica de ablación son capaces de generar células T nuevas no estimuladas en una proporción relacionada de manera inversa con la edad del individuo. Estas observaciones establecen que en la vida adulta pueden generarse células T nuevas, ya sea en el timo o en los aún misteriosos "sitios extratímicos", propuestos como localizaciones adicionales para la diferenciación de las células T.

Hito 12-1. La función inmunitaria del timo

Ludwig Gross había encontrado que una forma de leucemia murina podía inducirse en cepas con índices bajos de leucemia mediante la inoculación de un filtrado de tejido leucémico proveniente de cepas con índices elevados de leucemia, siempre que esta inoculación se realice en el período neonatal inmediato. Dado que se conocía que el timo estaba involucrado en el proceso leucémico, Jacques Miller decidió probar la hipótesis de que el virus de Gross sólo podría multiplicarse en el timo neonatal mediante la infección de cepas de ratones timectomizados en el período neonatal con bajo índice de leucemia. Los resultados fueron compatibles con esta hipótesis pero, extrañamente, los animales de una cepa murieron de una enfermedad consuntiva que según Miller podría haberse debido a la susceptibilidad a la infección, ya que murieron menos ratones cuando se los trasladó de los establos de caballos remodelados que servían como bioterios a cuartos "más higiénicos".

En la autopsia se demostró que los animales presentaban tejido linfoide atrofiado y bajos niveles de linfocitos en sangre, y Miller decidió probar su inmunocompetencia antes del comienzo de la enfermedad consuntiva. Para su asombro, los injertos cutáneos, incluso de ratas (fig. H12-1.1) así como de otras cepas de ratones, fueron aceptados por completo. Estos fenómenos no fueron inducidos por la timectomía más tarde en la vida y, al escribir sus resultados preliminares en 1961 (Miller JFAP, *Lancet*, **ii**, 748), el autor opinó que "durante la embriogénesis, el timo produciría las células que darían origen a las células competentes desde el punto de vista inmune, muchas de las cuales habrían migrado a otros sitios en el período cercano al nacimiento". En conjunto, un ejemplo extraordinario del método científico y su aplicación por un científico de alto vuelo.

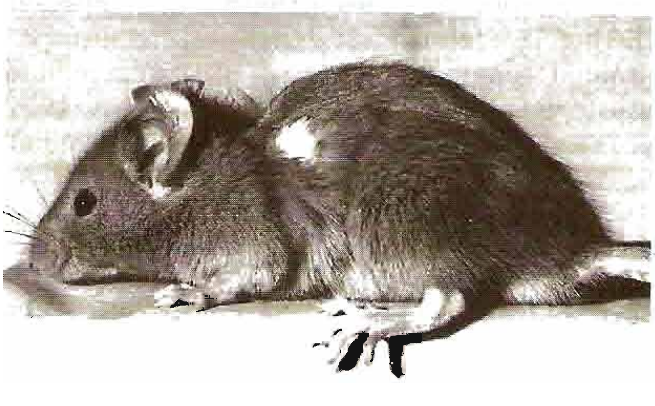


Fig. H12-1.1. Aceptación de un injerto de piel de rata por un ratón timectomizado en el período neonatal.

Las células madre de médula ósea se transforman en células T inmunocompetentes en el timo

La evidencia de esto proviene de los experimentos en la reconstitución de huéspedes irradiados. Un animal irradiado se restaura mediante injertos de médula ósea por medio de la restitución inmediata de precursores de granulocitos; en el largo plazo, también por la reconstitución de las células T y células B destruidas por la irradiación. Sin embargo, si el animal se timectomiza antes de la irradiación, las células de médula ósea no reconstituirán la población de linfocitos T (véase fig. 7-13).

Alrededor del día 11-12 en el embrión murino, las células madre linfoblastoides provenientes de la médula ósea comienzan a colonizar la periferia del rudimento epitelial del timo. Si éste se extirpa en esta etapa y se incuba en un cultivo del órgano, se generará una variedad completa de linfocitos T maduros. Esto no se observa si se cultivan los timos de 10 días, y muestra que la colonización por linfoblastoides da lugar a una progenie de linfocitos pequeños inmunocompetentes.

ONTOGENIA DE LAS CÉLULAS T

La diferenciación se acompaña por cambios en los marcadores de superficie

Los progenitores linfoides tímicos expresan varios receptores quimiocina y son atraídos al timo por una o más de las numerosas quimiocinas secretadas por las células de la estroma tímica; aún falta establecer cuáles son las fundamentales para este mecanismo. Estos progenitores expresan CD34 y la enzima desoxinucleotidil transferasa terminal (en inglés, *t*erminal *d*esoxinucleotidil *t*ransferase –TdT–) (fig. 12-4) involucrada en la inserción de secuencias del nucleótido en la región N-terminal de los segmentos de la región variable *D* y *J* para aumentar la diversidad de los receptores de células T (TCR) (véase pág. 72). También expresan niveles elevados de la molécula de adhesión CD44 y el receptor del factor de células madre (c-kit, CD117) (pág. 250), pero su falta de CD4 y CD8 los designa como timocitos **doble negativos**. Expresan niveles elevados de moléculas Notch. Estas proteínas de la superficie celular proporcionan señales en varios puntos clave durante la diferenciación del timocito. De hecho, se considera que son necesarias para comisionar el linaje de células T y el desarrollo de estas células se compromete en gran medida en los ratones producidos por noqueo *Notch*$^{-/-}$. Bajo la influencia de IL-1 y TNF, los progenitores se diferencian en protimocitos, comisionados para el linaje T, y éstos sufren la proliferación mediada por IL-7 para formar una población de células pre-T CD44^{-} CD117. En esta fase, las células comienzan a expresar diversas cadenas de TCR y luego se expanden, por último sintetizan CD3, el complejo de transducción de señal invariante del TCR, y se convierten en **doble positivas** para CD4^{+}, CD8^{+}, los marcadores de las subpoblaciones helper y citotóxica, respectivamente. Por último, de nuevo bajo la guía de las quimiocinas, atraviesan la unión corticomedular y llegan a la médula cuando los marcadores CD4 y CD8 se segregan junto con la diferenciación en poblaciones inmunocompetentes separadas de precursores **simples positivos de células T-helper CD4^{+} y T-citotóxicas CD8^{+}** (fig. 12-4). La señalización Notch-1 está involucrada en la maduración de ambas de estas subpoblaciones, con los ligandos Notch-1 Jagged-1, Jagged-2 y δ-tipo-1 que se expresan en las células epiteliales tímicas de una manera muy regulada. Las células γδ permanecen doble negativas, es decir CD4^{-}8^{-}, excepto en el caso de un pequeño subconjunto que expresa CD8.

Los factores que determinan si las células doble positivas se transforman en células CD4 o CD8 en el timo aún no se aclararon por completo. Hay dos hipótesis principales. La **estocástica** sugiere que la expresión de CD4 o CD8 se inhibe al azar, mientras que la **instructiva** establece que la interacción del TCR con el CMH-péptido produce señales que instruyen a las células T para transformarse ya sea en células CD4^{+}, restringidas por las moléculas clase II, o CD8^{+} restringidas por las moléculas clase I. El peso de las evidencias disponibles en la actualidad parecería apoyar el modelo instructivo, a pesar de que no se excluye por completo la posibilidad de una contribución de los episodios estocásticos. En consecuencia, parece que el poder de la señal p56^{lck} (véase pág. 185) se correlaciona con la opción del linaje y está determinado por la duración del ajuste del TCR durante la fase doble positiva de la diferenciación del timocito, una señal acumulativa más intensa a favor de la generación de células CD4 (fig. 12-5).

Reordenamiento del receptor

El reordenamiento de los genes de las regiones *V*, *D* y *J* requerido para generar el TCR (véase

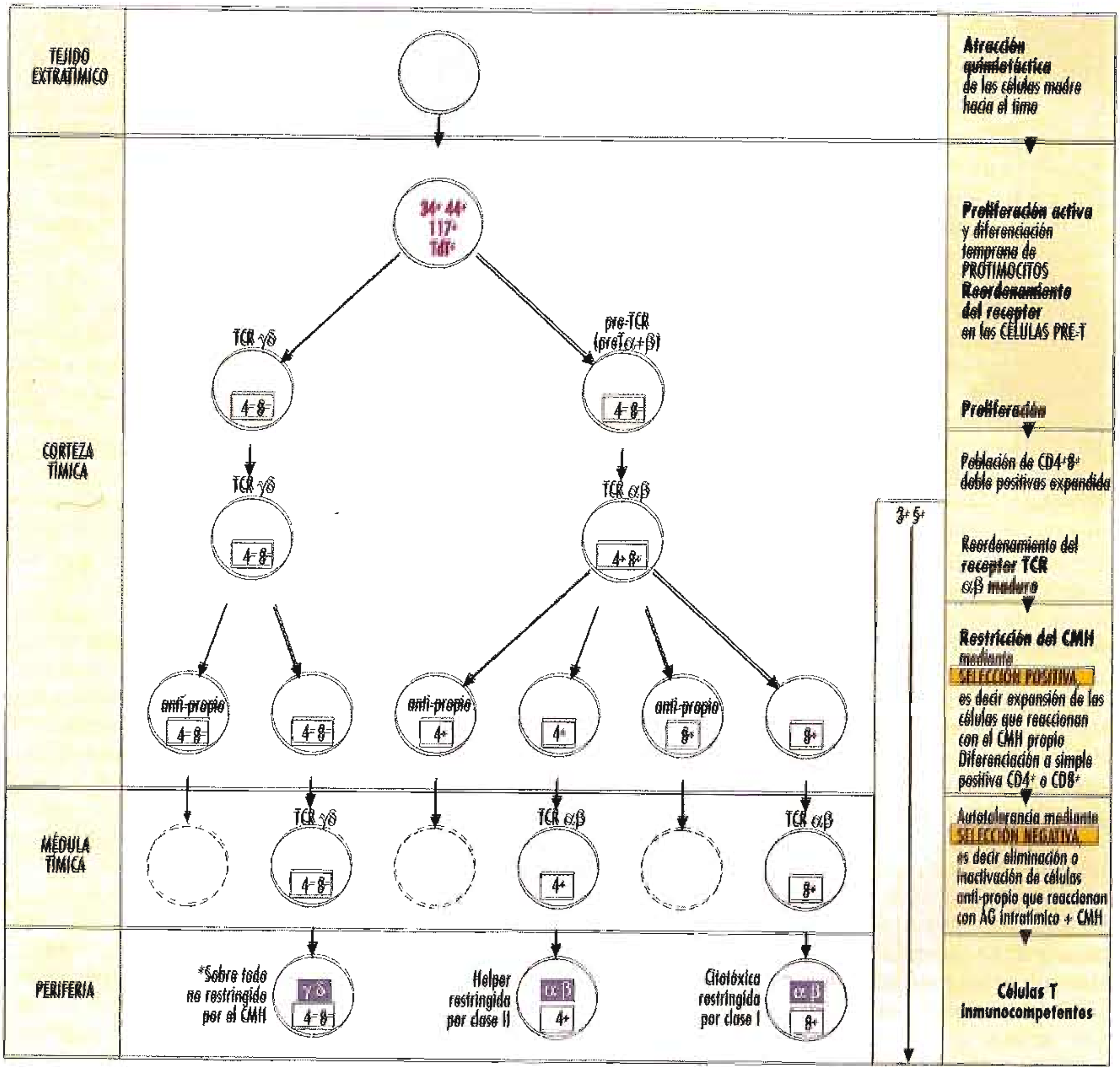

TEJIDO EXTRATÍMICO
CORTEZA TÍMICA
MÉDULA TÍMICA
PERIFERIA
34+ 44+
117+
TdT+
TCR γδ
pre-TCR (preTα+β)
4-8-
TCR αβ
4+8+
anti-propio
4+
8+
*Sobre todo no restringida por el CMH
γδ
Helper restringida por clase II
αβ
Citotóxica restringida por clase I
3+ 5+
Atracción quimiotáctica de las células madre hacia el timo
Proliferación activa y diferenciación temprana de PROTIMOCITOS
Reordenamiento del receptor en las CÉLULAS PRE-T
Proliferación
Población de CD4+8+ doble positivas expandida
Reordenamiento del receptor TCR αβ maduro
Restricción del CMH mediante SELECCIÓN POSITIVA, es decir expansión de las células que reaccionan con el CMH propio
Diferenciación a simple positiva CD4+ o CD8+
Autotolerancia mediante SELECCIÓN NEGATIVA, es decir eliminación o inactivación de células anti-propio que reaccionan con AG intratímico + CMH
Células T inmunocompetentes

Fig. 12-4. Diferenciación de las células T dentro del timo. Los números indican la designación del CD. TdT, desoxinucleotidil transferasa terminal. Las células seleccionadas de modo negativo aparecen en gris. El diagrama está simplificado en parte para mayor claridad. Las células autorreactivas con especificidad para antígenos propios no expresados en el timo pueden convertirse en tolerantes por el contacto periférico extratímico con el antígeno (círculos con líneas de punto). *Células γδ que sobre todo parecen reconocer directamente al antígeno, de una manera análoga a la molécula del anticuerpo en las células B, aunque algunas pueden estar restringidas por las moléculas no clásicas del CMH clase Ib o por las clásicas del CMH clase II. Las células T relativamente primitivas NK que portan un TCR αβ y el marcador de NK1.1 (véase pág. 113) a menudo están restringidas por CD1, aunque algunas están restringidas por las moléculas CMH clásicas.

pág. 69) aún no tuvo lugar en la fase de protimocito. El gen para TdT y los genes activadores de la recombinasa, *RAG-1* y *RAG-2*, se transcriben en el estadio pre-T, y alrededor del día 15 las células con TCR γδ pueden detectarse en el timo del ratón seguido pronto por la aparición de una versión de "**pre-TCR**". Las señales Notch-1 (¡de nuevo!) parecen desempeñar un papel en el comisionado del linaje αβ versus γδ, si bien aún se investigan los detalles.

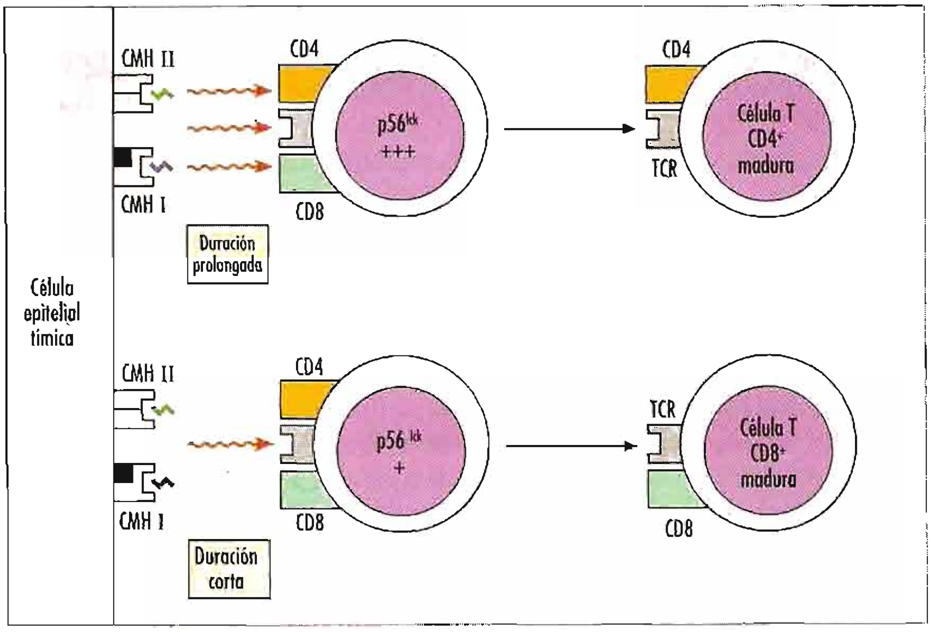


Fig. 12-5. Comisionado del linaje CD4 versus CD8. En este modelo, la duración de la señalización a través del TCR y correceptores en el timocito doble positivo ($CD4^+8^+$) determina la intensidad de la señal p56^{lck} que a su vez instruye al timocito para transformarse ya sea en células T CD4 si hay señales sostenidas de p56^{lck} o en células T CD8 si las señales son menos intensas.

Desarrollo de los receptores αβ

El *Vβ* primero se reordena en las células $CD4^-8^-$ doble negativas y se asocia con una cadena pre-α invariante, pTα, para formar un solo "pre-TCR" (fig. 12-4). Aunque el pre-TCR media la inhibición por retroalimentación en el reordenamiento adicional del gen *Vβ* TCR, para esta inhibición no se requiere el dominio extracelular pTα, lo que sugiere que no puede haber un ligando extracelular para pTα, como se pensaba antes. Una cisteína en la parte interna de la membrana sobre la cola citoplasmática sufre una palmitoilación y es factible que este proceso sea responsable de reclutar el pTα en el lípido de transporte que contiene la molécula de señalización p56^{lck}. Las células pre-T sufren un estallido frenético de proliferación controlado por células epiteliales y fibroblastos tímicos, lo que produce células doble positivas $CD4^+8^+$. El desarrollo posterior requiere el reordenamiento de los segmentos génicos *Vα*, lo que permite así la formación de TCR αβ maduro. Ahora las células están listas para acontecimientos posteriores de correcciones positivas y negativas del receptor, como se expondrá en forma breve.

El reordenamiento de los genes *Vβ* en la cromátide hermana se suprime luego de la expresión del pre-TCR (recuérdese que cada célula contiene dos cromosomas para cada cúmulo α y β). Así, cada célula sólo expresa una sola cadena TCRβ y el proceso por el que se suprimen los genes homólogos en la cromátide hermana se denomina **exclusión alélica** (véase pág. 270). Las cadenas α parecen no estar excluidas siempre desde el punto de vista alélico, de modo que algunas células T pueden tener dos receptores específicos para el antígeno, cada uno con su propia cadena α, pero comparten una cadena común β. Sin embargo, no es claro si ambos receptores pueden ser funcionales.

Desarrollo de los receptores γδ

A diferencia del TCR αβ, el TCR γδ en muchos casos parece unirse de manera directa al antígeno sin necesidad de presentación del antígeno por moléculas CMH o tipo CMH; es decir, reconoce el antígeno directamente, de manera similar al anticuerpo. El linaje γδ no produce un "prerreceptor" y los ratones que expresan transgenes γ y δ reordenados no vuelven a reordenar más los segmentos γ y δ, lo que indica la exclusión de los genes de la cromátide hermana.

Las células T γδ en el ratón, a diferencia de las de los seres humanos, predominan asociadas con las células epiteliales. Una característica curiosa de las células que abandonan el timo fetal es la restricción en la utilización del gen *V*. En consecuencia, prácticamente la totalidad de la primera ola de células γδ fetales expresa el gen *Vγ5* y coloniza la piel; la segunda ola utiliza la misma combinación de gen δ, pero un par diferente *V-J* γ que emplea *Vγ6*, y luego coloniza el útero en la hembra. En la vida adulta hay una mayor diversidad del receptor debido a un grado elevado de variación en la unión (véase pág. 72), aunque las células intraepiteliales en el intestino (Vγ4) y las del tejido linfoide encapsulado *(Vγ4, Vγ1, Vγ2)* están restringidas de nuevo con respecto al uso del gen *V*.

El conjunto Vγ en la piel prolifera con facilidad y secreta IL-2 con la exposición a los queratinocitos que sufrieron un shock térmico, lo que implica su participación en la vigilancia de señales en los traumatismos. Las células Vγ4 en el tejido linfoide periférico responden bien al antígeno PPD (derivado proteico purificado) y a los residuos conservados 180-196 de las micobacterias, así como a la propia proteína del shock térmico hsp65. Sin embargo, evidencia en los ratones obtenidos por noqueo TCR γδ sugiere que en términos globales, en el adulto, las células T γδ pueden hacer una contribución menor a la protección específica contra el patógeno. Por consiguiente, se propuso que el papel principal puede desarrollarse en la regulación de las células T αβ, con la mayoría de las células T γδ inclinadas hacia un patrón de secreción de citosina Th1.

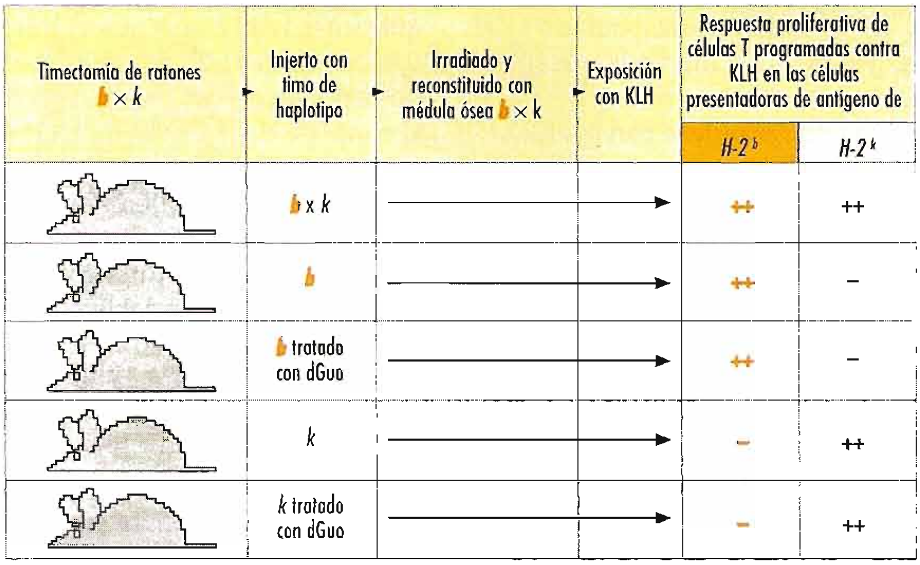
En el ser humano predominan dos subconjuntos principales γδ , Vγ9, Vδ2 y Vγ1, Vδ2. El conjunto Vγ9 se eleva del 25% en las células totales γδ en la sangre del cordón a alrededor del 70% en la sangre del adulto; al mismo tiempo, la proporción de Vγ1 disminuye del 50% a menos del 30%. La mayoría del conjunto Vγ9 posee el fenotipo de memoria activado CD45RO, tal vez como resultado de la estimulación por los ligandos comunes para TCR Vγ9, Vδ2 TCR, como los componentes de micobacterias, *Plasmodium falciparum* y el superantígeno enterotoxina A estafilocócica. Los subconjuntos Vγ9 de diversidad de unión se observaron en la sangre y el lavado broncoalveolar de dos pacientes con sarcoidosis, una enfermedad granulomatosa con compromiso micobacteriano. La conclusión de que estas dos subpoblaciones principales γδ son seleccionadas por antígenos poderosos parece ineludible.

Las células se seleccionan de modo positivo para la restricción del propio CMH en el timo

La capacidad de las células T para reconocer los péptidos antigénicos en asociación con el CMH propio se desarrolla en el timo. Si un animal F1 (H-2^k × H-2^b) se sensibiliza contra un antígeno, las células T programadas pueden reconocer ese antígeno en las células presentadoras del haplotipo, ya sea *H-2^k* o *H-2^b*; es decir que las células pueden utilizar cualquiera de los haplotipos de los progenitores como elemento de restricción para el reconocimiento. Sin embargo, si se utilizan células de médula ósea del F1 (H-2^k × H-2^b) para reconstituir un F1 irradiado que antes había sido timectomizado y trasplantado con un timo H-2^k, las células T programadas con posterioridad sólo pueden reconocer antígenos en el contexto de H-2^k, no de H-2^b (fig. 12-6). En consecuencia, es **el fenotipo del timo el que marca la restricción H-2** en la diferenciación de las células T.

En la figura 12-6 también se verá que la incubación del injerto del timo con desoxiguanosina, que destruye las células del linaje de macrófagos y dendríticas, no tiene efecto en la marcación (imprinting), lo que sugiere que esta función es llevada a cabo por las células epiteliales. La confirmación de esto proviene de un estudio en el que los ratones H-2^k sometidos a una irradiación letal, reconstituidos con médula ósea F1 (b × k) y luego inoculados de modo intratímico con una línea de células epiteliales tímicas H-2^b, desarrollaron células T restringidas por el haplotipo *b*. Las células epiteliales poseen un alto contenido de moléculas del CMH en la superficie y, según el criterio actual, las células T doble positivas (CD4$^+$8$^+$) que poseen receptores que reconocen el CMH propio en las células epiteliales se seleccionan de modo positivo para la diferenciación a las células simple positivas CD4$^+$8$^-$ o CD4$^-$8$^+$. Las evidencias de esto provienen en gran medida de estudios realizados en ratones transgénicos. Dado que ésta es un área muy activa, nos gustaría citar algunos ejemplos experimentales; los no profesionales pueden necesitar insistir en sus haplotipos, colocarlos en sus bolsas de hielo y concentrarlos.

Un estudio muy sofisticado comienza con un clon de células T citotóxicas originadas en hembras H-2^b contra células masculinas de la misma cepa. El clon reconoce el antígeno masculino, H-Y, y esto se observa en asociación con las moléculas propias H-2D^b del CMH, es decir reacciona con el complejo H-2^b/Y. Las cadenas α y β del receptor de células T de este clon ahora se introducen como transgenes en ratones SCID que carecen de la capacidad de reordenar sus propios genes de receptores de regiones variables de línea germinal; así, el único TCR que posiblemente podría expresarse es el codificado por los transgenes, por supuesto siempre que estudiemos hembras en lugar de machos, en quienes el clon sería eliminado por autorreactividad. Si las hembras SCID portan el haplotipo original *H-2b* (p. ej. híbridos F1 entre haplotipos *b × d*), entonces el receptor anti-H-2^b/Y se expresa con amplitud en las células citotóxicas precursoras CD8$^+$ (cuadro 12-1a), mientras que los transgénicos H-2^d que carecen de H-2^b sólo producen timocitos doble positivos CD4$^+$8$^+$ sin células simples CD4$^+$8$^-$ o CD4$^-$8$^+$. Así, a medida que las células CD4$^+$8$^+$ expresan su transgén de TCR, sólo se diferencian en células inmunocompetentes CD8$^+$ si entran en contacto con las cé-



Timectomía de ratones b × k	Injerto con timo de haplotipo	Irradiado y reconstituido con médula ósea b × k	Exposición con KLH	Respuesta proliferativa de células T programadas contra KLH en las células presentadoras de antígeno de	
				H-2^b	H-2^k
	b x k	⟶	⟶	++	++
	b	⟶	⟶	++	-
	b tratado con dGuo	⟶	⟶	++	-
	k	⟶	⟶	-	++
	k tratado con dGuo	⟶	⟶	-	++

Fig. 12-6. Marcación (imprinting) de la restricción de las células T helper H-2 por el haplotipo del timo. Los ratones huésped fueron F1 cruzados entre cepas de haplotipo *H-2b* y *H-2k*. Se timectomizaron y se los injertó con timo fetal de 14 días, se los irradió y se los reconstituyó con médula ósea F1. Después del cebado con el antígeno hemocianina de lapa (KLH), se evaluó la respuesta proliferativa de las células T de ganglio linfático KLH en las células presentadoras de antígenos de cada haplotipo progenitor. En algunos experimentos los lóbulos tímicos se cultivaron con desoxiguanosina (dGuo), que destruye las células intratímicas del linaje de células macrófagos/dendríticas, pero esto no tuvo efecto en la selección positiva. (De Lo D, Sprent J. [1986] *Nature* **319**,672.)

lulas epiteliales tímicas del haplotipo del CMH reconocido por su receptor. Indicamos que estos timocitos que reconocen lo propio se **seleccionan de modo positivo.** Los acontecimientos intracelulares positivos acompañan el proceso de selección positiva, ya que se activan las tirosina cinasas fyn y lck en los timocitos positivos dobles $CD4^+8^+$ que maduran a células positivas simples $CD8^+$ en el trasfondo del haplotipo *b,* si bien son menores en las células que fallan en la diferenciación en células maduras en el haplotipo d no selectivo.

En otro ejemplo, los genes que codifican un receptor $\alpha\beta$ de un clon de células T helper (2B4), que responden al citocromo c de la polilla en asociación con la molécula clase II H-2E α^k,β^b (recordar que el H-2E posee una cadena α y β), son transfectados en ratones H-2^k y H-2^b. Por razones irrelevantes, los ratones H-2^k expresan la molécula H-2E en la superficie de las células presentadoras de antígeno, pero los H-2^b no. En el estudio, la frecuencia de las células T $CD4^+$ circulantes que portan el receptor 2B4 fue 10 veces mayor en las cepas H-2^k en relación con las H-2^b, lo que indica de nuevo la selección positiva de los timocitos doble positivos que reconocen su propio CMH tímico. Otro rasgo característico adicional de la historia es que la selección positiva sólo se produjo en ratones manipulados para expresar H-2E en sus células epiteliales corticales en lugar de hacerlo en sus células epiteliales medulares, lo que demuestra que este paso de la diferenciación se efectúa antes de que los timocitos en desarrollo alcancen la médula. ("Léala de nuevo Sam", como podría haber dicho Humphrey Bogart!)

TOLERANCIA DE LAS CÉLULAS T

La inducción de tolerancia inmunitaria es necesaria para evitar la autorreactividad

En esencia, los linfocitos reconocen los antígenos extraños por medio de la complementariedad de la forma mediada por fuerzas intermoleculares que describimos antes (véase pág. 94). En gran medida los ladrillos utilizados para construir las moléculas microbianas y las del huésped son los mismos, y de este modo son las formas ensambladas de las moléculas de lo *propio* y lo *no propio* las que deben ser discriminadas por el sistema inmune, si es preciso evitar una autorreactividad que puede ser desastrosa. La restricción de cada linfocito contra una sola especificidad simplifica en gran medida el trabajo de establecer la autotolerancia, simplemente porque apenas requiere un mecanismo que anule desde el punto de vista funcional las células autorreactivas y deja el resto del repertorio sin alteraciones. La diferencia más radical entre las moléculas propias y no propias radica en que, en la vida temprana, los linfocitos en desarrollo están rodeados por lo propio y, en general, se encuentran con los antígenos no propios en una etapa más tardía, y luego dentro del contexto de la presencia de adyuvantes y la liberación de citocinas por lo común asociadas con la infección. Con su eficacia habitual, la fuerza ciega de la evolución aprovechó estas diferencias para establecer el mecanismo de la **tolerancia inmunitaria para los constituyentes del huésped** (hito 12-2).

La autotolerancia puede inducirse en el timo

Como las células T en desarrollo se encuentran en el timo, sería esperable que éste fuese el medio en el que la exposición a autoantígenos en las células circundantes induciría la tolerancia. La expectativa es razonable. Si las células madre en la médula ósea de haplotipo $H\text{-}2^k$ se cultivan con timo fetal de origen $H\text{-}2^d$, cuando las células maduran se tornan tolerantes al $H\text{-}2^d$, como queda demostrado por su incapacidad para dar una respuesta proliferativa mixta de linfocitos cuando se cultivan con estimuladores de fenotipo $H\text{-}2^d$; no se ve afectada la capacidad de respuesta ante otros agentes. En experimentos posteriores con timos tratados con desoxiguanosina se demostró que las células responsables de la inducción de la tolerancia eran sensibles a desoxiguanosina, macrófagos o células dendríticas derivadas de la médula ósea que abundan en la unión corticomedular (cuadro 12-2).

La deleción clonal intratímica conduce a la autotolerancia

Hay pocas dudas acerca de que las células T autorreactivas puedan eliminarse por métodos físicos dentro del timo. Si observamos el experimento del cuadro 12-1b, podemos ver que los machos SCID poseen los transgenes reordenados que codifican el receptor αβ y reaccionan con el antígeno H-Y de los machos que no poseen células tímicas inmunocompetentes que expresen este receptor, mientras que las hembras que carecen de H-Y las poseen. Así, cuando las células T en desarrollo reaccionan con el autoantígeno en el timo, sufren una deleción.

Cuadro 12-1. *Selección positiva y negativa en ratones transgénicos SCID que poseen los receptores αβ de un clon de células T H-2Db T citotóxicas para el antígeno masculino H-Y, es decir el clon posee un haplotipo* $H\text{-}2^b$ *y es femenino antimasculino. a) Las únicas células T son las que poseen el TCR transgénico ya ordenado, dado que los ratones SCID no pueden reordenar sus propios genes V. Los clones sólo se expanden más allá del estadio* $CD4^+8^+$ *cuando se seleccionó de manera positiva por el contacto con el haplotipo (*$H\text{-}2^b$*) del CMH reconocido por el clon original del que derivó el transgén. Asimismo, dado que el TCR reconoció la clase I, sólo se seleccionaron las células* $CD8^+$*. b) Cuando se expresa el clon transgénico antimasculino en las células T intratímicas en un ambiente masculino, el enérgico compromiso del TCR con las células que portan el antígeno masculino las elimina. (Basado en los datos de von Boehmer H y col. [1989] En Metchers F. y col. [eds.] Progress in Immunolgy 7, pág. 297. Springer-Verlag, Berlín.)*

Fenotipo de los timocitos		a Selección positiva		b Selección negativa	
		Haplotipo de las hembras transgénicas		Ratón transgénico H-2b	
		$H\text{-}2^{b/d}$	$H\text{-}2^{d/d}$	Machos	Hembras
$CD4^-8^-$	TCR^-	+	+ +	++ +	+
$CD4^+8^+$	$TCR^\pm$	++	+	–	+++
$CD4^-8^+$	TCR^{++}	+	–	–	+
$CD4^+8^-$	TCR^{++}	–	–	–	–

+, representa una medida aproximada de las cantidades relativas de células T en el timo que poseen en fenotipo indicado.

En otras palabras, las células autorreactivas sufren un proceso de **selección negativa** en el timo. Un fenómeno similar se observa cuando las células tímicas poseen ciertos componentes propios que actúan como superantígenos (véase pág. 114) al reaccionar con una familia entera de receptores Vβ por medio del reconocimiento de estructuras invariables en un segmento Vβ. Un ejemplo es la molécula H-2E, que reacciona con receptores que pertenecen a la familia Vβ17a; las cepas que no pueden expresar H-2E debido a un defecto en el gen *Ea* poseen células T maduras que utilizan Vβ17a, mientras que las que expresan H-2E por lo común delecionan sus células T Vβ17a positivas. De manera similar, los ratones del genotipo *Mls^a* eliminan las células que portan Vβ6; el *Mls* es un locus que codifica un super antígeno de células B que induce una proliferación

Hito 12-2. Descubrimiento de la tolerancia inmunitaria

Hace más de 40 años, Owen realizó la intrigante observación de que los bovinos gemelos no idénticos (dicigotos) que compartieron la misma circulación placentaria y cuyas circulaciones estaban en consecuencia vinculadas, crecieron con apreciables cantidades de glóbulos rojos del otro gemelo en su sangre; si ellos no hubieran compartido la misma circulación al nacimiento, los glóbulos rojos del gemelo inyectados en la vida adulta se habrían eliminado con rapidez por una respuesta inmune. De este hallazgo, Burnet y Fenner concibieron la noción de que los antígenos potenciales que alcanzan las células linfoides durante su fase inmadura del desarrollo inmunitario pueden suprimir de alguna manera cualquier respuesta específica futura contra ese antígeno cuando el animal alcanza la madurez inmunitaria. Los autores consideraron que esto proporcionaría un medio por el cual se podía establecer una falta de respuesta a los constituyentes propios y por eso podría permitir que las células linfoides realicen la distinción importante entre "lo propio" y lo "no propio". Sobre esta base, cualquier célula extraña introducida en el cuerpo durante el desarrollo inmunitario debe engañar al animal para que la considere "componente propio" más tarde en la vida, y en los estudios de Medawar y col. se demostró que la **tolerancia inmunitaria**, o falta de respuesta, puede inducirse de modo artificial de esta manera. Así, la inyección neonatal de células de ratón CBA en animales recién nacidos de la cepa A suprimen su capacidad de rechazar inmunológicamente un injerto CBA en la vida adulta (fig. H12-2.1). La tolerancia también puede inducirse con antígenos solubles; por ejemplo, los conejos inyectados con albúmina sérica bovina sin adyuvante en el momento de nacer no elaboran anticuerpos frente a un desafío posterior con esta proteína.

Para mantener la tolerancia es necesaria la persistencia del antígeno. En los experimentos de Medawar, el estado de tolerancia persistió por mucho tiempo, porque las células de CBA inyectadas sobrevivían y los animales continuaron siendo quiméricos (es decir, poseían ambas células, A y CBA). Con los antígenos no vivos, como la albúmina sérica bovina soluble, la tolerancia se pierde de manera gradual; la explicación más probable es que, en ausencia de antígeno, las células inmunocompetentes reclutadas en forma reciente que se generan durante la vida no son tolerantes. Dado que el reclutamiento de los linfocitos T recientemente competentes se reduce de modo drástico con la extirpación del timo, es de interés destacar que el estado de tolerancia persiste por más tiempo en los animales timectomizados.

La importancia vital de los experimentos realizados por Medawar y su equipo fue la demostración de que puede producirse un estado de tolerancia inmunitaria por la exposición frente a un antígeno. Sin embargo, en estudios recientes se sugirió que el concepto de una *ventana neonatal* para la inducción de tolerancia es más aparente que real y se origina del número relativamente bajo de células T inmunocompetentes en la periferia, cuyo comportamiento no difiere del de las células T en reposo en el adulto, en lo que se refiere a su capacidad de convertirse en tolerantes o de desarrollar una respuesta inmune (véanse los artículos de *Science* [1996] **271**, 1723, 1726 y 1728), aunque estas células T en reposo se convierten en tolerantes con más facilidad que las de memoria. Como se describirá en el texto, hay una ventana de susceptibilidad para la deleción clonal de los linfocitos T autorreactivos en su desarrollo ontogénico dentro del timo (y, en el caso de células B, dentro de la médula ósea).

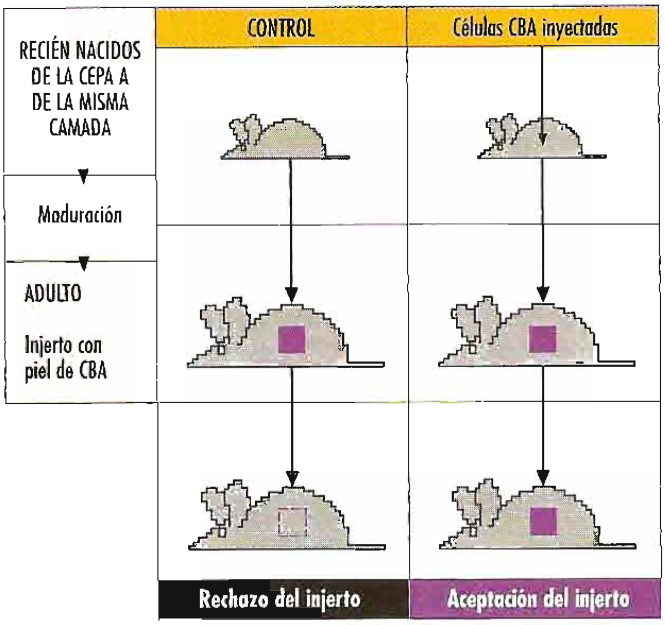


Fig. H12-2.1. Inducción de tolerancia para un injerto extraño en ratones de cepa A por inyección neonatal de antígeno. El efecto es específico del antígeno ya que por lo común los ratones tolerantes pueden rechazar injertos de terceros. (De Billingham R, Brent L, Medawar PB. [1953] *Nature* **172**,603.)

intensa en las células T Vβ6 provenientes de una cepa que posee un alelo *Mls* diferente (véase pág. 114). Incluso con los superantígenos exógenos, como la enterotoxina B estafilocócica que activa las familias de células T Vβ3 y Vβ8 en el adulto, eliminarán estas células cuando se incuban con timocitos inmaduros tempranos. Aun más demostrativo es que, bajo estas circunstancias, los timocitos Vβ3 y Vβ8 en realidad pueden sufrir apoptosis (véase pág. 19).

Factores que afectan la selección positiva o negativa en el timo

Se estableció que la ocupación del TCR por el complejo péptido-CMH en algún tipo de células presentadoras de antígenos es responsable de la selección positiva y negativa. Pero, ¿cómo puede la misma señal péptido-CMH tener dos resultados totalmente diferentes? Bien, la selección positiva y negativa puede producirse con bajo y alto grados de ligación al TCR, respectivamente. Por ejemplo, las concentraciones elevadas de anticuerpos contra el TCR inducen apoptosis en los timocitos (fig. 12-7), mientras que las concentraciones bajas anti-TCR no lo hacen. Además, se publicaron muchos ejemplos que demuestran que el mismo péptido inducirá selección positiva en baja concentración y selección negativa en alta concentración (véase el epígrafe de la fig. 12-8). Esto condujo al modelo de avidez, que postula que una interacción de avidez baja desde el punto de vista funcional entre la célula T y el péptido-CMH que involucra un relativamente escaso número de TCR seleccionará timocitos doble positivos $CD4^+8^+$, mientras que una interacción de alta avidez conducirá a una deleción clonal (fig. 12-8). Dado que la avidez global de la interacción de células T será *inter alia* una función de la densidad del ligando × densidad del TCR × afinidad, un aumento en la concentración del péptido incrementará la densidad del ligando y en consecuencia la avidez. De inmediato el lector perspicaz evidenciará un problema, y es que un ligando peptídico dado, que otorga un estímulo inicial de baja avidez para la selección positiva, debería producir una señal negativa a medida que el timocito se diferencia y la densidad de TCR aumenta con el cambio proveniente de células doble positivas a simple positivas. Esto condujo a sugerir que las células tímicas corticales desensibilizan de manera progresiva el timocito que madura para que resista el estímulo más poderoso de los macrófagos y de las células dendríticas medulares que, de otro modo, inducirían la apoptosis. Hay cada vez más evidencias acerca de que el epitelio tímico puede sintetizar glucocorticoides, hormonas clásicamente asociadas con la glándula suprarrenal. Es probable que el cierre leucina inducido por glucocorticoides (glucocorticoid-induced leucin zipper –GILZ–) (véase pág. 242) proteja las células de una señal que, de otro modo, produciría muerte celular inducida por activación.

Si hacemos una pausa, parece que indicamos que la ocupación de los TCR de los timocitos doble positivos $CD4^+8^+$ en proceso de diferenciación con CMH propio en las células epiteliales corticales conduce a la expansión y la selección positiva para los clones que reconocen el CMH propio, quizá con un espectro entero de afinidades, pero esa ocupación del TCR con alta afinidad para el CMH propio (péptido propio +) en las células medulares derivadas de la médula ósea conducirá a la eliminación y por eso a la selección negativa. Aunque aún no está del todo resuelto, hay diferencias evidentes en las vías bioquímicas utilizadas para la señalización positiva y negativa. La selección positiva es sensible a la ciclosporina A y dependiente de la vía Ras-MEK-ERK (véase pág. 186), mientras que la selección negativa es resistente a la ciclosporina A e independiente de esta vía. Las diferentes intensidades de señalización del TCR, los tipos de correceptores utilizados o ambos, pueden influir en el tipo de vía empleado. Permítanos terminar en una nota de advertencia: el modelo de avidez puede ser sustancialmente correcto, pero podría ser una simplificación excesiva. Por ejemplo, en el caso de ciertos superantígenos que pueden causar deleción clonal de determinadas familias de Vβ, no logran expandirlas incluso en concentraciones muy bajas cuando el modelo habría indicado selección positiva. Esto esti-

Cuadro 12-2. *Inducción de tolerancia en células madre de médula ósea por incubación con macrófagos o células dendríticas sensibles a desoxiguanosina (dGuo) en el timo. Es claro que las células de médula ósea inducen tolerancia para su propio haplotipo. Así, las células que inducen tolerancia tímica pueden ser reemplazadas por los progenitores en el inóculo de médula ósea (Jenkinson FJ, Jhittay P, Kingston R y Owen JJ 1985 Trasplantation 39,331) o por células dendríticas adultas provenientes del bazo, lo que demuestra que es el estadio de diferenciación de la célula T inmadura más que cualquier naturaleza especial de la célula presentadora de antígeno tímica lo que conduce a la tolerancia (Matzinger P, Guerder S. (1989)* Nature *338, 74)*

Células de médula ósea	Incubar con timo H-2d	Inducción de tolerancia para el haplotipo H-2		
		k	*d*	*b*
k	No tratado	+	+	–
k	Tratado con dGuo	+	–	–
k + d	Tratado con dGuo	+	+	–

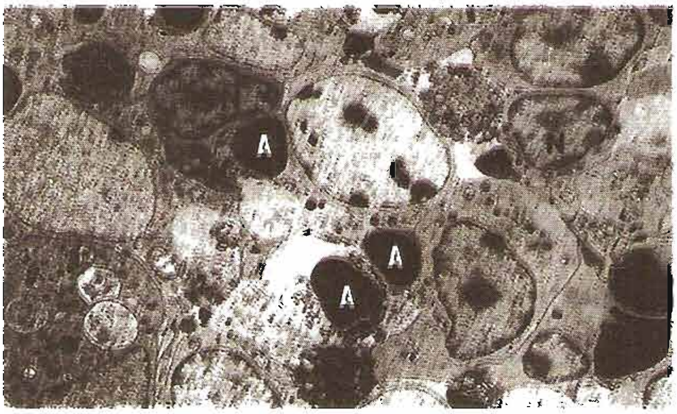


Fig. 12-7. Microfotografía electrónica de células inducidas a sufrir apoptosis en los lóbulos tímicos fetales intactos después de la exposición a corto plazo al anti-CD3. A y N indican linfocitos apoptósicos y normales representativos, respectivamente. Nótese el estado altamente condensado de los núcleos de los linfocitos apoptósicos. (Fotografía donada gentilmente por el Profesor JJT Owen, de Smith y col. [1989] *Nature* 337,181. Reproducido con autorización de Macmillan Journals Ltd., Londres.)

muló otros modelos que involucran cambios conformacionales y brindan interacciones complejas de péptidos que se comportan como agonistas, agonistas parciales y antagonistas (véase pág. 190); aún no se pronunció la última palabra (¡no es que en la ciencia se haga alguna vez!).

Si miramos de nuevo la figura 12-8, las especificidades de las células T que entran a la periferia desde el timo deben estar modeladas por los péptidos propios, que guían la selección positiva, dado que por lo común los únicos péptidos de los alrededores deben derivar del propio. Por consiguiente, es importante destacar que el repertorio de células T tiende a desviarse hacia péptidos de antígenos extrínsecos que se asemejan a los propios; así, los epítopos de células T reconocidos en la inmunización con lisozima xenogénica se correspondían con las secuencias de mayor homología con la proteína singénica.

La tolerancia de células T también puede deberse a anergia clonal

Ya consideramos la idea de que la estimulación de la célula T requiere la ocupación del TCR más una señal coestimuladora proveniente de una célula presentadora de antígeno, pero cuando la señal coestimuladora falta, la célula T se convierte en tolerante o anérgica, o si se prefiere, paralizada.

Así, la anergia puede ser inducida en las **células T extratímicas** por los antígenos periféricos in vivo cuando son presentados por células que carecen de moléculas coestimuladoras. Si se introduce una construcción transgénica H-2E^b adherida a un promotor de insulina en un ratón que por lo común no puede expresar H-2E, el producto del transgén H-2E^b aparece en las células β del páncreas e induce tolerancia para sí. Mientras que la expresión H-2E

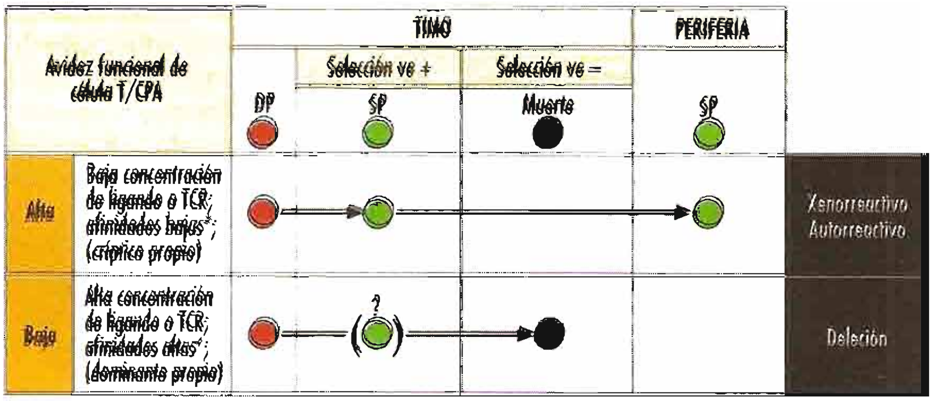

TIMO
PERIFERIA
Avidez funcional de célula T/CPA
Selección ve +
Selección ve =
DP
SP
Muerte
SP
Alta
Baja concentración de ligando o TCR; afinidades bajas*; (críptico propio)
Xenorreactivo
Autorreactivo
Baja
Alta concentración de ligando o TCR; afinidades altas*; (dominante propio)
?
Deleción

Fig. 12-8. El modelo de avidez de la selección positiva y negativa tímica. Se postula que una interacción de baja avidez entre la célula T y la célula presentadora del antígeno (CPA) dará una selección positiva, y que la alta avidez producirá una deleción. DP, CD4$^+$8$^+$ doble positivo; SP, CD4$^+$ o CD8$^+$ simple positivo; * se refiere a la afinidad del péptido para el CMH o del complejo péptido-CMH para el TCR.

Cuando los ratones mutantes Tap-1 (véase pág. 103) se cruzan con ratones que portan los transgenes para el TCR específico para un complejo de H-2D^b con un péptido del virus LCM, se altera la selección positiva de las células T transgénicas debido a la falta de CMH-péptido. Sin embargo, las bajas concentraciones del péptido agregadas a los cultivos de órganos fetales de estos ratones seleccionaron de manera positiva las células T transgénicas, mientras que las concentraciones más altas produjeron una selección negativa (Ljunggren HG, van Kaer L. [1995] *The immunologist* 3, 136). Los péptidos "crípticos propios" (véase pág. 225) se presentan en muy bajas concentraciones y no eliminarán los clones que pueden ser autorreactivos, que en consecuencia pueden escapar a la periferia.

en las células derivadas de la médula ósea deleciona las células T que portan los receptores Vβ17a, estas células no se pierden en el ratón transgénico tolerante que expresa H-2E pancreático; es decir, hay un estado de anergia clonal, no deleción. El estado inmune alterado de estas células se pone de manifiesto por su incapacidad de proliferar cuando sus receptores están ligados de manera cruzada por un anticuerpo contra Vβ17a.

Es improbable que estos resultados se deban a un bajo nivel de expresión del antígeno en el timo. En experimentos similares se mostró que los ratones que expresan hemaglutinina de influenza en los islotes de células β pancreáticas también se transformaron en tolerantes más allá de si el timo transgénico se reemplazaba por una glándula normal o no. No obstante, las células anérgicas también pueden generarse dentro de la población tímica, como sucede en los ratones transgénicos tanto para un TCR anti-K^b como para un gen K^b controlado por un fragmento truncado de un promotor de queratina IV que permitió la expresión en las células medulares tímicas.

La anergia de células T periféricas puede producirse en diferentes niveles que dependen en efecto de las circunstancias de exposición al antígeno. Si el experimento doble transgénico descrito antes se repite con un promotor de queratina IV completo, el antígeno K^b se expresa en los queratinocitos e induce la tolerancia total, aun cuando la misma alta frecuencia de precursores de células T citotóxicas con el transgén TCR se ve como en los animales transgénicos aislados carentes de K^b. Si K^b se expresa en las células de origen neuroectodérmico o en los hepatocitos, de nuevo los ratones transgénicos dobles son tolerantes, si bien hay una regulación espectacular en menos de las moléculas de TCR y CD8; en el primer caso pero no el último, la regulación en menos del TCR podría invertirse por la exposición al antígeno in vitro. En algunos modelos experimentales, la tolerancia puede suprimirse por la IL-2. Para recapitular, las células T autorreactivas pueden tornarse anérgicas en la periferia y desplegar grados diferentes de falta de respuesta que puede revertirse.

Anergia infecciosa

Si un clon de células T helper se somete a un experimento de dilución limitante (pág. 152), la unidad mínima de proliferación en respuesta al péptido en una CPA suele ser de varias células, no sólo una. Esto implica que la estimulación sólo se produce en pequeños grupos o cúmulos de células, y sugiere que se necesitan interacciones paracrinas o multicelulares entre los posibles respondedores unidos a una sola CPA para inducir a las células a la división (fig. 12-9a). Se apreciará que si una célula T extratímica de origen reciente no estimulada se une a su antígeno, incluso en una CPA profesional, no se estimulará si sus vecinas en el cúmulo ya fueron anérgicas. De hecho, en lugar de activarse, ella misma se tornará anérgica, de modo que perpetúa el proceso infeccioso anérgico (fig. 12-9b). La evidencia reciente sugiere que las células T anérgicas pueden actuar como inmunorreguladoras y provocar regulación en menos de las moléculas clase II del CMH y de las moléculas coestimuladoras CD80 (B7.1) y CD86 (B7.2) en las CPA, lo que genera una anergia infecciosa que no requiere la presencia simultánea de las células anérgicas reguladoras, y las células por sí solas se harán anérgicas (fig. 12-9c). Más adelante, en el capítulo 17, veremos que la inducción de inmunusopresión para el trasplante con anti-CD4 que no produce depleción puede ser de larga duración debido a que la producción de células anérgicas previene la marcación de los linfocitos T inmunocompetentes recientes por el antígeno o los antígenos del trasplante.

Estas células anérgicas en realidad actúan como supresoras. Hasta ahora en nuestros debates no preguntamos: ¿las células T supresoras especializadas contribuyen con la autotolerancia? Con franqueza, otra área gris, pero en experimentos se puede demostrar que, si en un animal normal inducimos autoinmunidad, ya sea de manera activa, por la inoculación de un antígeno que reacciona en forma cruzada con lo propio, o pasiva, por la inoculación de células T autorreactivas (véanse pág. 476 y 496), los clones autorreactivos suelen estar suprimidos por las células T supresoras específicas del antígeno o del idiotipo. En resumen, las células supresoras no evitan la autoinmunidad pero pueden invertirla.

La falta de comunicación puede causar incapacidad de respuesta

Hacen falta dos para bailar el tango: si la molécula propia no puede ocupar el TCR, no puede haber respuesta alguna. El aislamiento anatómico de las moléculas, a semejanza de la proteína del cristalino del ojo y la proteína básica de la mielina en el cerebro, prácticamente impide que estas proteínas se pongan en contacto con los linfocitos, excepto quizá para cantidades mínimas de productos metabólicos de degradación que filtran y pueden ser captados por las células presentadoras de antígenos, pero en concentraciones muy por debajo de las nece-

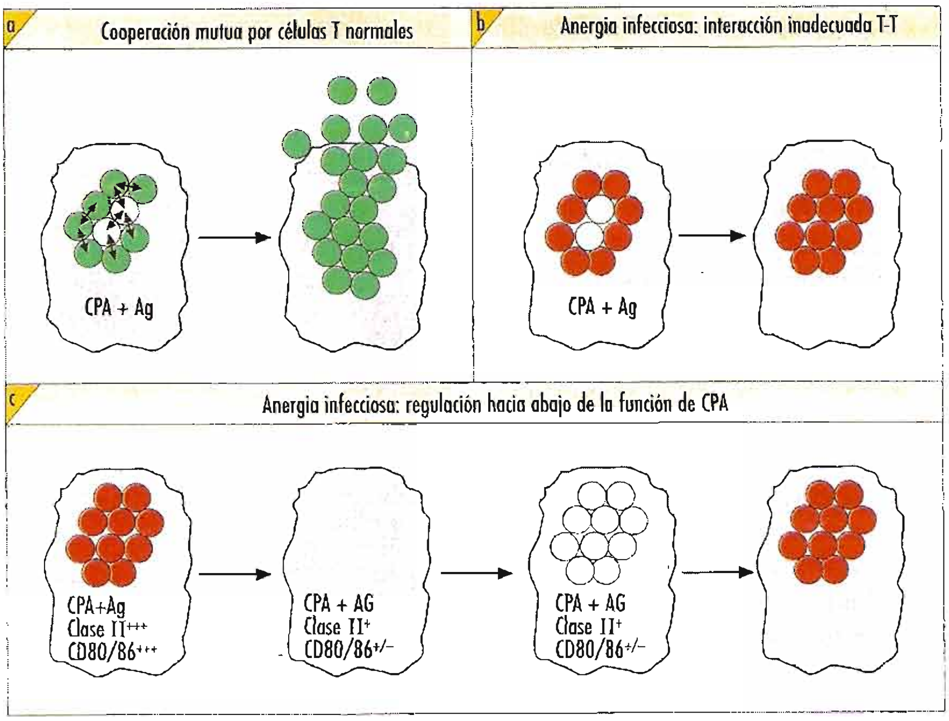

a
Cooperación mutua por células T normales
CPA + Ag
b
Anergia infecciosa: interacción inadecuada T-T
CPA + Ag
c
Anergia infecciosa: regulación hacia abajo de la función de CPA
CPA+Ag
Clase II+++
CD80/86+++
CPA + AG
Clase II+
CD80/86+/-
CPA + AG
Clase II+
CD80/86+/-

Fig. 12-9. **Anergia infecciosa.** **a)** Los cúmulos de células T normales (verde) alrededor de las células inmunocompetentes recientes (gris) que reaccionan con la misma CPA apoyan mutuamente la activación y la proliferación. **b)** Las células inmunocompetentes recientes rodeadas por células T anérgicas (rojo) no reciben señales estimuladoras de sus vecinos y ellas mismas se tornan anérgicas. c) Cuando se convierten en anérgicas, las células T pueden asumir una función inmunorreguladora con la que regulan en menos la expresión de las moléculas clase II del CMH, CD80 (B7.1) y CD86 (B7.2) en la CPA. Este efecto requiere el contacto intercelular entre células T anérgicas y CPA, no es bloqueado por anticuerpos neutralizantes contra las citocinas IL-4, IL-10 o TGFβ y exhibiría supresión ligada a otros epítopos en el antígeno presentado por la CPA. El encuentro posterior de células inmunocompetentes recientes con esta CPA conducirá a la anergia.

sarias para activar la correspondiente célula T no estimulada con anterioridad.

Aun cuando un tejido se expone a los linfocitos circulantes, la concentración del péptido procesado en la superficie celular puede ser insuficiente para llamar la atención de una célula que puede ser autorreactiva en ausencia de la coestimuladora B7. Esto se demostró de modo más que elegante en animales que poseen dos transgenes: uno para el TCR de una célula T citotóxica CD8 específica para la glucoproteína del virus LCM y el otro para la propia glucoproteína expresada en las células β pancreáticas a través del promotor de insulina. ¿El resultado? Un silencio ensordecedor: las células T no estaban delecionadas ni eran tolerantes, ni se atacaban las células β. Si luego se infectaba a estos ratones por virus LCM, las células T transgénicas no estimuladas con anterioridad se presentaban con concentraciones adecuadas de glucoproteínas procesadas dentro del contexto adyuvante de una infección verdadera y entonces se estimulaban. Su progenie *programada* (cebada), con una mayor avidez (véase pág. 442) y que en consecuencia era capaz de reconocer bajas concentraciones de glucoproteínas procesadas en las células β, atacó sus blancos incluso en ausencia de B7 y produjo diabetes (fig. 12-10). Esto puede parecer una pequeñez tortuosa, pero el principio podría tener implicancias importantes en la inducción de autoinmunidad por reacción cruzada con los epítopos de las células T (véase pág. 471).

Las moléculas específicamente restringidas en órganos particulares que por lo común no expresan CMH clase II representan otro caso especial, ya que no tendrían la oportunidad desde el punto de vista clonal de producir la deleción o la parálisis de las células T helper CD4 específicas de órganos.

También se produciría el silencio inmune si un individuo no posee genes que codifican los receptores del linfocito dirigidos contra determinantes propios particulares; el análisis experimental de la respuesta inducida de autoanticuerpos contra citocromos sugiere que sólo las partes de la molécula que muestran variación de especie son autoantigénicas, mientras que las regiones altamente conservadas donde los genes no se alternaron durante un tiempo mucho más prolongado parecen silenciosas, su-

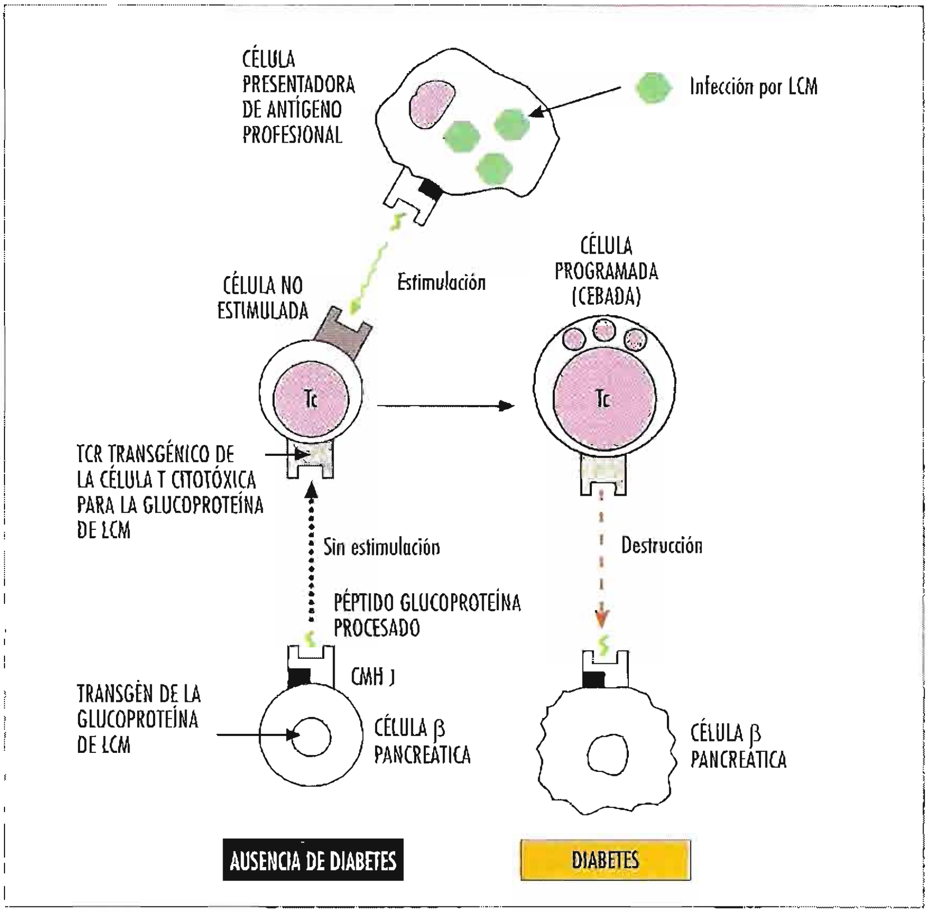

CÉLULA PRESENTADORA DE ANTÍGENO PROFESIONAL
Infección por LCM
CÉLULA NO ESTIMULADA
Estimulación
CÉLULA PROGRAMADA (CEBADA)
Tc
Tc
TCR TRANSGÉNICO DE LA CÉLULA T CITOTÓXICA PARA LA GLUCOPROTEÍNA DE LCM
Sin estimulación
Destrucción
PÉPTIDO GLUCOPROTEÍNA PROCESADO
CMH I
TRANSGÈN DE LA GLUCOPROTEÍNA DE LCM
CÉLULA β PANCREÁTICA
CÉLULA β PANCREÁTICA
AUSENCIA DE DIABETES
DIABETES

Fig. 12-10. Falta de percepción mutua de una precursora de la célula T citotóxica no estimulada y su blanco celular B7 negativo que posee epítopos presentes en bajas concentraciones. Programación (cebado) de las células no estimuladas por una infección natural y el ataque posterior por células estimuladas con mayor avidez en el tejido blanco LCM, virus de la coriomeningitis linfocítica. (De Ohashi y col. [1991] *Cell* 65, 305.)

puestamente debido a que las especificidades autorreactivas tuvieron tiempo de desaparecer.

LAS CÉLULAS B SE DIFERENCIAN EN EL HÍGADO FETAL Y LUEGO EN LA MÉDULA ÓSEA

Los precursores de los linfocitos B o células pro-B están presentes entre los islotes de las células hematopoyéticas en el hígado fetal alrededor de las 8-9 semanas de gestación en los seres humanos y a los 14 días en el ratón. La producción de células B por el hígado declina y es asumida en su mayor parte por la médula ósea por el resto de la vida.

Si se utilizan las condiciones de cultivo modificadas introducidas por Whitlock y Witte, ahora es posible obtener desarrollo de células de médula ósea in vitro y lograr la diferenciación de células B y sus precursores. Las células reticulares de la estroma, que expresan las moléculas de adhesión y secretan IL-7, extienden largas prolongaciones dendríticas que establecen un contacto íntimo con los progenitores de las células B con receptores positivos para IL-7. Aunque las células B tempranas sólo comprenden una subpoblación menor de células en esos cultivos, es posible analizar los diferentes estadios en su desarrollo por medio del rescate con el virus de la leucemia murina de Abelson (A MuLV), un retrovirus con replicación defectuosa capaz de transformar las células pre-B en clones en varios puntos de su desarrollo. En la actualidad se estableció una serie de marcadores de diferenciación asociados con la maduración de las células B (fig. 12- 11).

Pax5 es un factor determinante importante en la diferenciación de células B

El desarrollo de las células hematopoyéticas a lo largo del linaje de las células B requiere la expresión de E2A y del factor de células B prematuras (en inglés, *e*arly *B*-cell *f*actor - EBF); la ausencia de cualquiera de éstos impide que las células pro-B progresen al estadio de célula pre-B (fig. 12-12). También se requiere la expresión del gen *Pax5* que codifica el factor de transcripción BSAP (en inglés, *B*-cell-*s*pecific *a*ctivator *p*rotein; proteína activadora específica de células B). Así, en los ratones por noqueo *Pax5*$^{-/-}$, las células B primitivas (que contienen genes de la cadena pesada de inmunoglobulina parcialmente

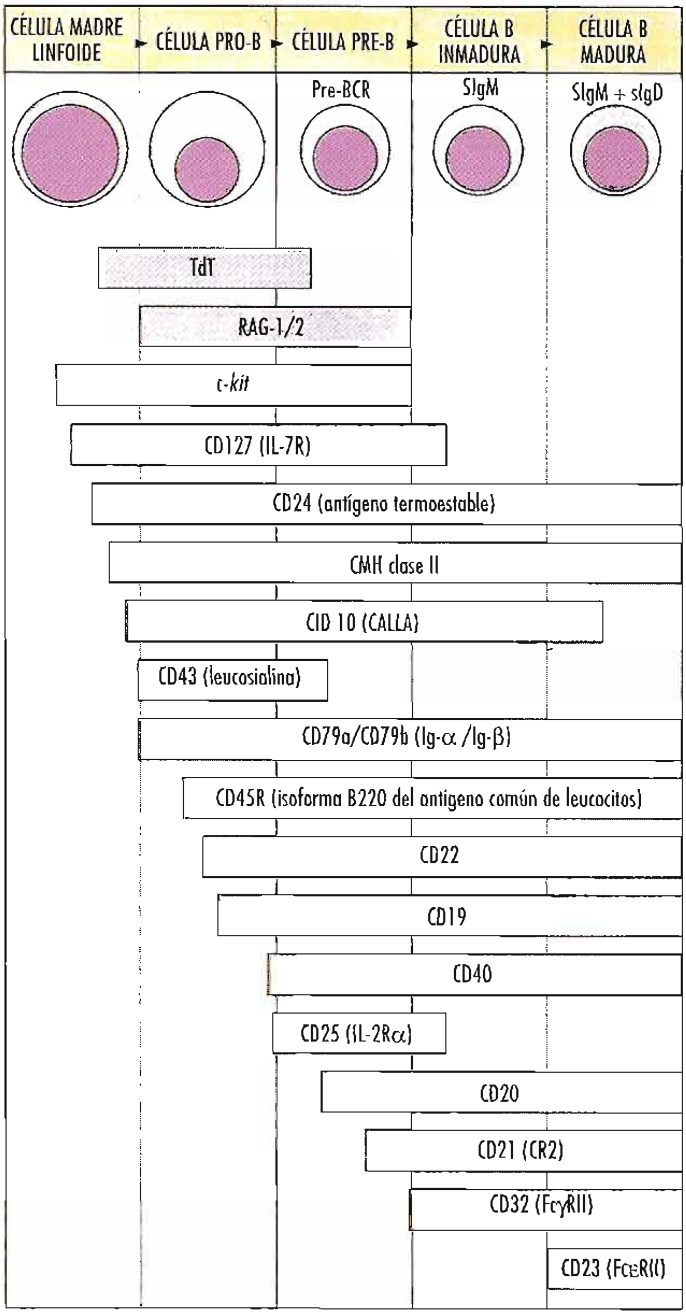

CÉLULA MADRE LINFOIDE
CÉLULA PRO-B
CÉLULA PRE-B
CÉLULA B INMADURA
CÉLULA B MADURA
Pre-BCR
SIgM
SIgM + sIgD
TdT
RAG-1/2
c-kit
CD127 (IL-7R)
CD24 (antígeno termoestable)
CMH clase II
CID 10 (CALLA)
CD43 (leucosialina)
CD79a/CD79b (Ig-α /Ig-β)
CD45R (isoforma B220 del antígeno común de leucocitos)
CD22
CD19
CD40
CD25 (IL-2Rα)
CD20
CD21 (CR2)
CD32 (FcγRII)
CD23 (FcεRII)

Fig. 12-11. Algunos de los marcadores de diferenciación de las células B en desarrollo. Se observa el momento de aparición de las enzimas involucradas en el reordenamiento y la diversificación del gen de Ig (recuadros azules) y de los marcadores de superficie definidos por medio de anticuerpos monoclonales (recuadros anaranjados, véase cuadro 8-1 y apéndice 1 para la lista de los integrantes del CD).

Cuadro 12-3. *Comparación de dos subconjuntos de células B murinos.* (Desarrollado a partir de Herzenberg LA, Stall A, Melchers F y col. [eds.] [1989]. *Progress in Immunolgy 7, pág. 409. Springer- Verlag, Berlín.)*

	B-1	B-2
FENOTIPO		
IGM	+++	+
IGD	+	+++
CD5	+ o –	–
CD23	–	+
CD43	+	–
UBICACIÓN PRINCIPAL	Cavidad peritoneal	Órganos linfoides
ONTOGENIA	Al principio se originan en el hígado fetal	Originadas más tarde en la médula ósea del adulto
DURACIÓN EN LA VIDA	Autorrenovación Producción constitutiva IL-10	Reemplazadas por precursores IgM⁻ en la médula ósea
CRECIMIENTO	Propensión a la expansión	Mueren con facilidad
ALTERACIÓN DEL DESARROLLO	Xid (CBA/N)[1]	Me^v (apolillados)[2]
GENES Ig	Sin mutación, poca inserción de N-nucleótidos	Deformado, común Con mutación, inserciones habituales de N-nucleótidos
PRODUCCIÓN DE ANTICUERPOS		
Séricos IgM, IgG3	+++	+
IgG 1	+	+++
IgG2a, IgG2b	+ a ++	+ + a +++
IgM, autoanticuerpos	+++	?
IgM, anti-id	+++	?
IgM, ac antibacteriano	+++	+ a +++
Antihapteno/proteína	?	+++
T-dependencia	–	+ +
Maduración de afinidad	–	+ +

[1] Los ratones CBA/N poseen una inmunodeficiencia génica ligada al cromosoma X (Xid) que produce un defecto en la tirosina cinasa de Bruton (btk) asociado con una maduración deficiente de las células B-1 y respuestas inadecuadas para los antígenos timoindependientes tipo II.

[2] Los ratones "apolillados" poseen una mutación me^v que afecta el gen de la proteína tirosina fosfatasa 1C (PTP-1C), que de manera espectacular altera el umbral para el antígeno y desvía con energía el desarrollo hacia la subpoblación B-1. Los ratones presentan autoimunidad diseminada y la mayoría de las células B son B-1.

reordenados) no se diferencian en células B maduras con Ig$^+$ de superficie (fig. 12-12). ¡Sin embargo, si a las células B provenientes de ratones por noqueo *Pax5*$^{-/-}$ se les proporcionan citocinas apropiadas in vitro, pueden ser conducidas a producir células T, células NK, macrófagos, células dendríticas, granulocitos e incluso osteoclastos! Estos hallazgos inesperados muestran con claridad que las células B primitivas pueden desviarse de su camino escogido, y en cambio proporcionan una fuente de células para muchos otros linajes hematopoyéticos. Sin embargo, estas células B no son pluripotentes ya que, a diferencia de las células madre de médula ósea, son incapaces de recuperar a los ratones que recibieron irradiación letal. A la luz de estos hallazgos, se propuso que *Pax5* actúa como un gen principal crítico para el desarrollo de la célula B celular y que las funciones de inhibición más que de activación son

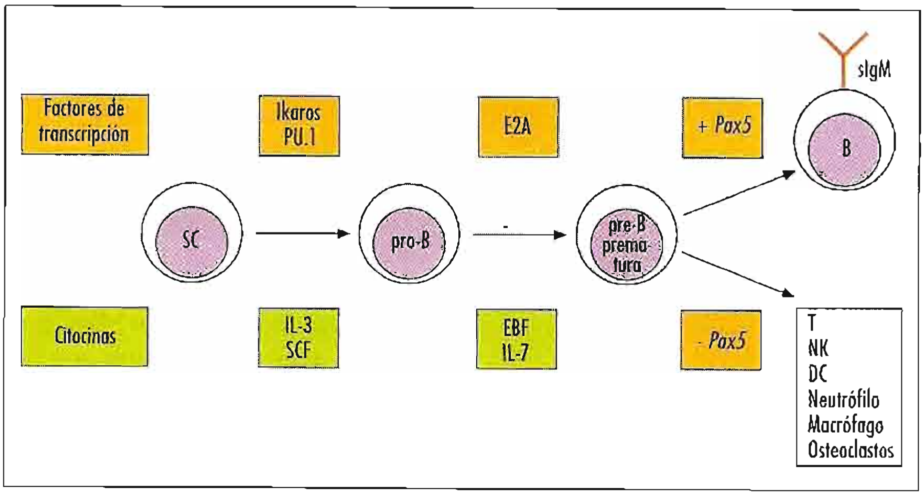


Fig. 12-12. ***Pax5* se requiere para la diferenciación de células B.** La célula madre (SC) hematopoyética bajo la influencia del factor de células madre (SCF), IL-3 y los factores Ikaros y de transcripción PU.1 puede diferenciarse en células pro-B. La diferenciación posterior en células pre-B requiere el factor de transcripción E2A junto con el factor de células B temprano (EBF) e IL-7. Los ratones mutantes E2A homocigotos carecen de células pre-B, que se deben a un bloqueo en el reordenamiento D_HJ_H en el locus de la cadena pesada de Ig más una grave reducción en RAG-1, Ig-α, CD19 y transcriptos ζ_5. Si en el estadio pre-B temprano no se expresa *Pax5*, entonces se produce una detención abrupta en la diferenciación del linaje de células B. Estas células pre-B prematuras reordenaron Ig D_H a J_H, lo que indica su intención de convertirse en células B. Sin embargo, incluso en esta fase tardía, pueden hacer otras opciones del linaje, como se evidencia porque, en ausencia de la expresión *Pax5*, pueden dar lugar a varios otros tipos celulares si se les proporciona las citocinas apropiadas. De hecho, los clones *Pax5*$^{-/-}$ son capaces de desarrollarse a células T si se transfieren a ratones inmunodeficientes, en cuyo caso expresan genes TCR reordenados además de su reordenamiento del gen de la cadena pesada de Ig inicial.

consecuencia de un conjunto de genes. La expresión de *Pax5* en consecuencia suprime la opción del linaje alternativo en las células B prematuras.

LAS CÉLULAS B-1 Y B-2 REPRESENTAN DOS POBLACIONES DISTINTAS

Con anterioridad mencionamos a las subpoblaciones de células B que, además de la IgM de superficie, expresan CD5 (véase pág. 233). Los progenitores de esta subpoblación se trasladan desde el hígado fetal hasta la cavidad peritoneal bastante temprano en la vida, estadio en el que representan el tipo de células B más abundante y predominan en su contribución con la red del idiotipo y la producción de autoanticuerpos IgM multiespecíficos de baja afinidad y los denominados anticuerpos "naturales" contra hidratos de carbono bacterianos, que en apariencia se originan apenas más tarde en el período neonatal sin la exposición evidente a los antígenos convencionales.

El **fenotipo B-1, o sea alta cantidad de IgM de superficie, baja cantidad de IgD de superficie, CD43$^+$ y CD23$^-$**, es compartido por una subpoblación minoritaria que, no obstante, es CD5$^-$; estas dos poblaciones se denominan B-1a y B-1b, respectivamente (fig. 12-13). El **fenotipo de las células B-2** convencionales (cuadro 12-3), **con baja cantidad de IgM de superficie, alta cantidad de IgD de superficie, CD5-, CD43- y CD23+**, refleja que representan un linaje de desarrollo separado (fig. 12-13). Pueden realizarse algunos comentarios generales. Si bien las células B-1 pueden variar al fenotipo B-2 y tal vez se produzca el proceso inverso, en circunstancias normales hay una conversión mínima entre los dos linajes. Las células B-1 son en particular predominantes en la cavidad peritoneal, mantienen sus cifras por autoperpetuación y limitan su producción de novo a partir de los progenitores por un mecanismo de regulación por retroalimentación. Pueden expresar en su superficie tanto CD5 como su ligando CD72, lo que debería estimular una interacción mutua, si bien un factor fundamental que influye en la autorrenovación podría ser la producción constitutiva de IL-10, ya que el tratamiento de ratones con anti IL-10 desde el nacimiento elimina casi por completo la subpoblación B-1. La predisposición para la autorrenovación puede ser la causa subyacente de su susceptibilidad indebida para transformarse en células leucémicas, con las células

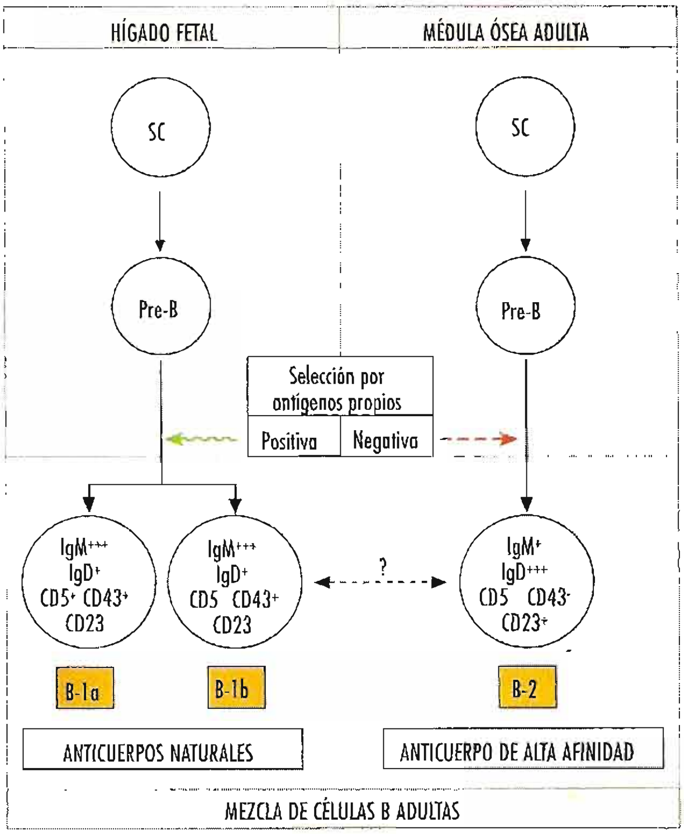

HÍGADO FETAL
MÉDULA ÓSEA ADULTA
SC
SC
Pre-B
Pre-B
Selección por antígenos propios
Positiva
Negativa
IgM+++ IgD+ CD5+ CD43+ CD23
IgM+++ IgD+ CD5 CD43+ CD23
?
IgM+ IgD+++ CD5 CD43- CD23+
B-1a
B-1b
B-2
ANTICUERPOS NATURALES
ANTICUERPO DE ALTA AFINIDAD
MEZCLA DE CÉLULAS B ADULTAS

Fig. 12-13. Desarrollo de las subpoblaciones de células B separadas. Se presume que las células B-1 de avidez lo suficientemente alta para los antígenos propios de superficie se eliminan y dejan las especificidades seleccionadas de manera positiva de menor afinidad para los antígenos propios solubles y el espectro de células B-1 productoras de anticuerpos naturales. Por el contrario, las células B-2 sufren la selección negativa, en lugar de positiva, por los antígenos propios y las células B-2 sobrevivientes dan lugar a anticuerpos IgG de afinidad más alta producidos por las células B con clase cambiada dependientes de las células T helper. Se piensa que, si bien estas subpoblaciones podrían ser capaces de dar origen a otras en algunas circunstancias, por lo general se mantienen como linajes separados. Evidencias directas de las células B seleccionadas de manera positiva para antígenos propios son proporcionadas por ratones transgénicos para el gen V_H*3609* de la cadena pesada. La cadena pesada codificada por el transgén se aparea con la cadena liviana Vκ21C endógena para producir un autoanticuerpo antitimocito asociado con las células B CD5$^+$ que reconoce un epítopo de hidrato de carbono asociado con Thy-1. Niveles elevados de células B transgénicas y de autoanticuerpos séricos sólo se encontraron en presencia del autoantígeno, y estuvieron ausentes en ratones por noqueo Thy-1. SC, célula madre; CD23, FcεRII; CD43, leucosialina.

malignas en la leucemia linfocítica crónica que de manera casi invariable son CD5$^+$.

Las células B-1 tienden a utilizar genes *V* de línea germinal particulares y la respuesta de autoanticuerpos contra eritrocitos tratados con bromelina está restringida a esta subpoblación que utiliza familias bastante diminutas V_H*11* y V_H*12*. La expansión clonal parece estar inducida por la reacción con los autoantígenos (véase el epígrafe de la fig. 12-13). Tiende a responder a los antígenos timoindependientes tipo 2 (véase pág. 191) y, a diferencia de la población B-2, no se relacionan con los antígenos timodependientes, no entran en los centros germinativos y en consecuencia no sufren mutación somática ni forman anticuerpos de alta afinidad. Esto puede estar bien si los autoanticuerpos de baja afinidad inocuos que se producen por muchas células B-1 no se convierten en forma automática en autoanticuerpos de alta afinidad patógenos. En un momento de debilidad a veces se escuchan las denominaciones de autoanticuerpos "buenos" y "malos", donde es posible que los "sujetos buenos" tengan el trabajo de barrer los componentes propios degradados, como lo imaginaba hace muchos años el querido Pierre Grabar cuando los consideraba *globulines transporteurs*.

Otras funciones de las células B-1 pueden ser la generación de una red del idiotipo involucrada en la autotolerancia, la respuesta a los antígenos microbianos conservados y tal vez la regulación idiotípica de las respuestas por B-2. Por cierto, son la fuente de los "anticuerpos naturales" que proporcionan una línea de defensa preexistente de IgM contra los microbios comunes. Hasta el 50% de las células que producen IgA en la lámina propia proviene de las células B-1 de la cavidad peritoneal. En consecuencia éstas son una fuente importante de IgA de las mucosas, que recubre la microflora normal del intestino.

DESARROLLO DE LA ESPECIFICIDAD DE CÉLULAS B

Secuencia de reordenamientos del gen inmunoglobulina

Mediante el análisis de los clones transformados A-MuLV de células pre-B, fue posible descifrar la cascada metódica de los reordenamientos del gen Ig que se producen durante la diferenciación.

Etapa 1. En un comienzo, se reordenan los segmentos *D-J* en ambas regiones que codifican la cadena pesada (uno de cada progenitor) (fig. 12-14).

Etapa 2. El acontecimiento de recombinación *AV-DJ* se produce ahora en una cadena pesada. Si se demuestra que esto es un reordenamiento *no productivo* (es decir, los segmentos se unen en un marco de lectura incorrecto o de un modo que genera un codón de terminación hacia el extremo 3' a

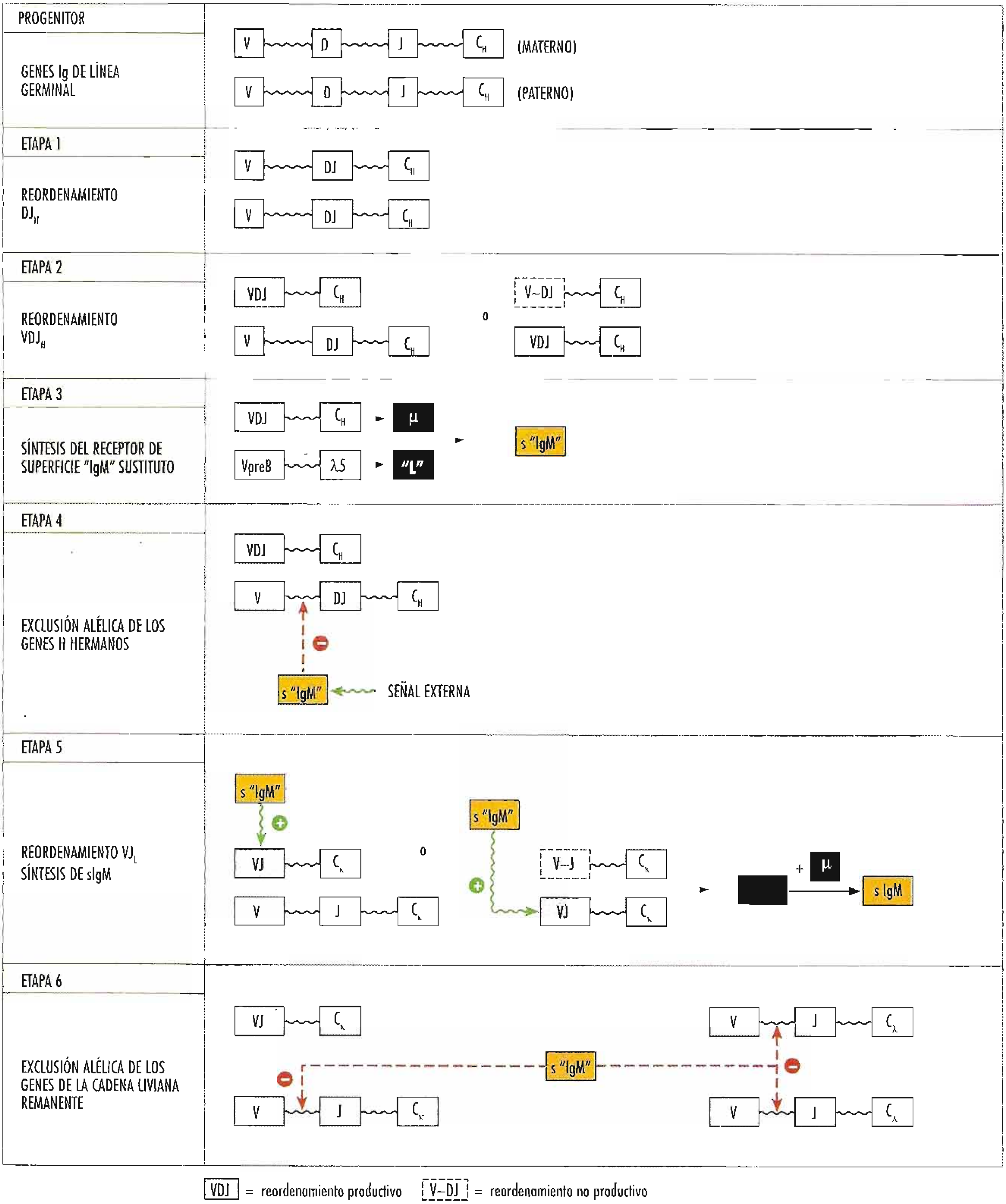

PROGENITOR
GENES Ig DE LÍNEA GERMINAL
V
D
J
C_H
(MATERNO)
(PATERNO)
ETAPA 1
REORDENAMIENTO DJ_H
DJ
ETAPA 2
REORDENAMIENTO VDJ_H
VDJ
V–DJ
o
ETAPA 3
SÍNTESIS DEL RECEPTOR DE SUPERFICIE "IgM" SUSTITUTO
VpreB
λ5
μ
"L"
s "IgM"
ETAPA 4
EXCLUSIÓN ALÉLICA DE LOS GENES H HERMANOS
SEÑAL EXTERNA
ETAPA 5
REORDENAMIENTO VJ_L
SÍNTESIS DE sIgM
VJ
V–J
$C_κ$
+
s IgM
ETAPA 6
EXCLUSIÓN ALÉLICA DE LOS GENES DE LA CADENA LIVIANA REMANENTE
$C_λ$
VDJ = reordenamiento productivo
V–DJ = reordenamiento no productivo

Fig. 12-14. Secuencia de los reordenamientos génicos de las células B y mecanismos postulados de exclusión alélica (véase el texto).

partir del punto de empalme) entonces se producirá un segundo reordenamiento *V-DJ* sobre la región de la cadena pesada hermana. Si no se logra el reordenamiento productivo, podemos despedirnos de la célula pre-B.

Etapa 3. Si asumimos que se realiza un reordenamiento productivo, la célula pre-B puede ahora sintetizar las cadenas μ. Más o menos al mismo tiempo, dos genes V_{preB} *(CD179a)* y λ_5 *(CD179b)*, con homología para los segmentos V_L y C_L de las cadenas livianas λ, respectivamente, se transcriben de manera temporaria para formar una "seudo-cadena liviana" que se asocia con las cadenas μ para generar un receptor sustituto "IgM" de superficie, junto con las cadenas Ig-α (CD79a) e Ig-β (CD79b) requeridas de manera convencional para formar un receptor de células B funcional. La expresión de este receptor es esencial para la diferenciación posterior de los linfocitos B, ya que la ruptura del exón de la membrana de la cadena μ o del gen λ_5 por recombinación homóloga de células madre embrionarias (véase pág. 158) detiene el desarrollo en el estadio pre-B y el animal está desprovisto de células B maduras. Este receptor sustituto posee un paralelismo estrecho con el receptor pre-Tα/β sobre los precursores de las células que poseen TCR α/β.

Etapa 4. El receptor de superficie recibe una señal, quizá por una célula de la estroma, para suprimir cualquier reordenamiento posterior de los genes de la cadena pesada en una cromátide hermana. Esto se denomina **exclusión alélica** y se comentó antes respecto del reordenamiento de las cadenas β del TCR (véase pág. 256).

Etapa 5. Se presume que en este momento el receptor de superficie inicia el próximo conjunto de reordenamientos génicos que se producen en los locus de la cadena liviana κ. Éstos involucran recombinaciones *V-J*, primero sobre uno y luego en el otro alelo κ, hasta que se obtiene un reordenamiento productivo V_κ-*J*. Si esto fallara se realizaría un esfuerzo para lograr el reordenamiento productivo de los alelos λ. Ahora se realiza la síntesis de sIgM convencional.

Etapa 6. En este momento, la molécula sIgM impide cualquier desorden génico adicional mediante la exclusión alélica de todos los genes de cadena liviana no reordenados.

En la próxima etapa de diferenciación, la célula desarrolla un compromiso para producir una clase particular de anticuerpo y posee en su superficie IgM ya sea sola o en combinación con IgA o IgG. El agregado posterior de IgD de superficie determina la claridad de la célula B no estimulada para ser programada por el antígeno. Por consiguiente, algunas células portan Ig de superficie de tres clases diferentes: M, G y D o M, A y D; si bien todas las moléculas de Ig en una célula individual poseen el mismo idiotipo y en consecuencia derivan de los mismos genes V_H y V_L, probablemente por empalme de un transcripto de RNA largo. La IgD se pierde con la estimulación antigénica, de modo que las células de memoria carecen de esta Ig. En las fases terminales en la vida de una célula plasmática totalmente madura, se desprenden casi todas las Ig de superficie. La inyección de anti-μ (anticuerpo contra la cadena pesada de la IgM) en embriones de pollo impide la maduración posterior de las células productoras de anticuerpo IgM e IgG, mientras que anti-γ sólo inhibe el desarrollo de IgG. Aunque antes vimos que las células T helper pueden inducir el cambio de clase, también es probable que cierto cambio del isotipo se produzca de modo independiente del antígeno como resultado de factores microambientales. En la bolsa de Fabricio embrionaria de los pollos se observa un cambio regular de IgM a IgG y parece posible que las influencias locales en el intestino sean responsables para el desarrollo predominante de células que producen IgA.

Estas células se generan en las placas de Peyer, pasan a la sangre por el conducto torácico y vuelven a poblar el tejido linfoide difuso de la lámina propia del intestino.

La importancia de la exclusión alélica

Dado que cada célula posee complementos cromosómicos derivados de cada padre, la célula B en vías de diferenciación posee cuatro cúmulos de genes de cadena liviana y dos de cadena pesada para escoger a partir de ellos. Ya describimos cómo, una vez que se produce el reordenamiento *VDJ* del DNA dentro de un cúmulo de la cadena liviana y uno de la cadena pesada, se mantienen los genes *V* en los otros cuatro cromosomas por un mecanismo de exclusión alélica, de modo que la célula pueda expresar sólo una cadena liviana y una cadena pesada. Esto es esencial para que actúe la selección clonal, dado que la célula entonces se programa sólo para elaborar el anticuerpo que utiliza como receptor de la superficie celular para reconocer el antígeno. Además, este mecanismo de exclusión génica impide la formación de moléculas que contengan dos cadenas livianas o dos pesadas diferentes que podrían tener sitios de unión no idénticos y en consecuencia serían monovalentes desde el punto de vista funcional con respecto a la mayoría de los antígenos; estos anticuerpos serían no aglutinantes y tenderían a tener baja avidez, porque no podría operar el efecto de bonificación de la multivalencia.

Respuestas específicas diferentes pueden aparecer de manera secuencial

Las respuestas contra antígenos dados en el período neonatal aparecen de manera secuencial, como si cada especie fuera programada para reacomodar sus genes *V* en un orden definido (fig. 12-15). Al comienzo en la ontogenia hay un prejuicio que favorece el reordenamiento de los genes V_H más próximo al segmento *DJ*.

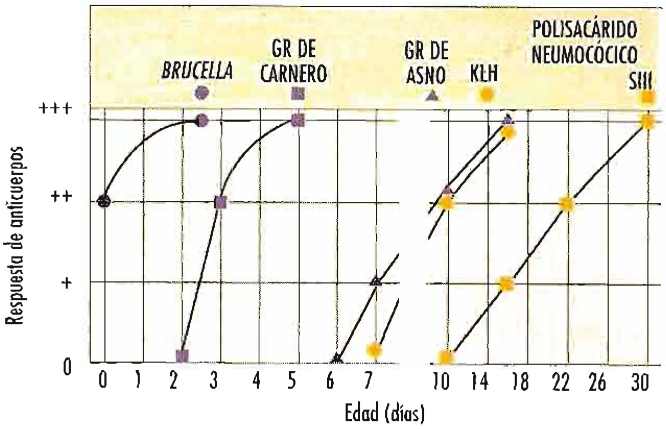


Fig. 12-15. Aparición secuencial de la capacidad de respuesta contra diferentes antígenos en la rata neonatal. GR, glóbulos rojos; KLH, hemocianina de lapa.

INDUCCIÓN DE TOLERANCIA EN LOS LINFOCITOS B

La tolerancia puede ser causada por deleción y anergia clonales

Como en las células T, ambos mecanismos pueden participar en las células B para prevenir la reacción a lo propio. Lo que proporciona evidencias excelentes de que la deleción proviene de ratones que portan transgenes que codifican IgM responsables de la unión a las moléculas H-2K de todos los haplotipos *H-2*, excepto *d* y *f*. Los ratones con haplotipo $H\text{-}2^d$ expresan grandes cantidades séricas de IgM transgénica, mientras que el 25-50% de las células B totales poseen el idiotipo transgénico. La cruza F1 *(d × k)* falla por completo en expresar el transgén, ya sea en el suero o en las células B, es decir, las células B programadas para anti-H-$2K^k$ estaban expresadas en los ratones $H\text{-}2^d$ pero se encontraban eliminadas en los ratones positivos para H-$2K^k$, que en estas circunstancias actúan como autoantígeno.

La tolerancia a través de la anergia de las células B se demostró con claridad en otro estudio en el que se estimuló a ratones transgénicos dobles a expresar lisozima y un anticuerpo de alta afinidad contra la lisozima. Los animales fueron completamente tolerantes y no podrían inmunizarse para elaborar anti-lisozima; tampoco aparecieron anticuerpos transgénicos en el suero aunque eran abundantes en la superficie de las células B. Estas células anérgicas podrían unir el antígeno a sus receptores de superficie pero podrían no activarse. Como el libertino añoso, ansiosamente embriagado en los atractivos visuales de alguna bella joven, estos linfocitos tolerantes pueden "ver" el antígeno pero carecen de la capacidad de hacer algo al respecto.

La posibilidad de que el encuentro con lo propio provoque deleción o anergia depende tal vez de la concentración y la capacidad de formar enlaces cruzados de receptores de Ig. En el primero de los dos modelos de tolerancia de células B mencionados antes, el autoantígeno H-$2K^k$ se expresaría en gran cantidad sobre las células en contacto con los linfocitos en desarrollo y podría causar enlaces cruzados efectivos. En el segundo caso, la lisozima, que se hace pasar como molécula "propia", es en esencia univalente con respecto a los receptores sobre una célula B antilisozima y no provocaría con facilidad enlaces cruzados. La hipótesis se probó mediante el agregado de un segmento hidrófobo transmembrana en el transgén de la lisozima, de modo que el antígeno se insertara en la membrana celular. ¿El resultado? Las células B que expresan el transgén antilisozima de alta afinidad fueron eliminadas.

Puede entrar en juego otro mecanismo de autocensura, denominado corrección del receptor. Ya se mencionó un tipo de corrección del receptor (véase pág. 73) en el que los reordenamientos secundarios sustituyen otro gen *V* en un segmento *V(D)J* ya reordenado. Sin embargo, la corrección del receptor también puede producirse por el reemplazo al por mayor de una cadena liviana entera. Esto puede explicarse mejor por medio de un ejemplo. Si los genes de la cadena liviana y pesada de la Ig que codifican un autoanticuerpo anti-DNA de alta afinidad se introducen como transgenes en un ratón, se produce una variedad de cadenas livianas por un nuevo desorden genético hasta que se logra una combinación con la cadena pesada que ya no tiene activi-

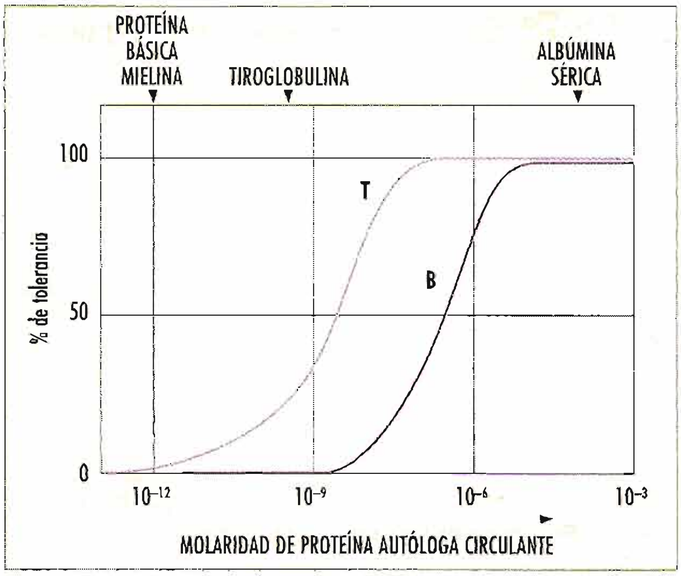


Fig. 12-16. Susceptibilidad relativa de las células T y B a la tolerancia por autoantígenos circulantes. Los que circulan en baja concentración no inducen tolerancia; a concentración intermedia, por ejemplo, tiroglobulina, las células T logran una tolerancia moderada, las moléculas como albúmina que circula en altas concentraciones tornan tolerantes tanto las células B como las T.

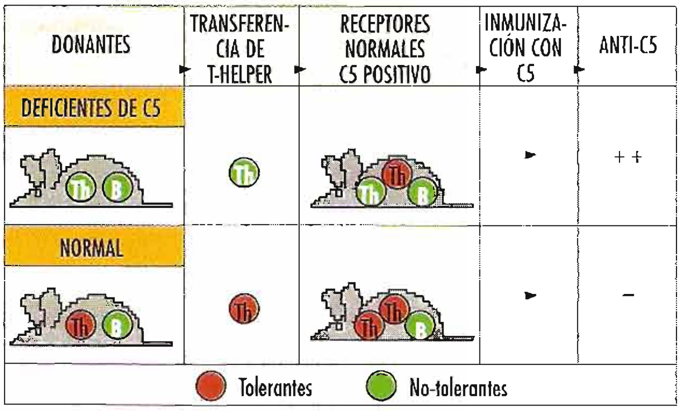


Fig. 12-17. El C5 circulante torna tolerantes las células T pero no las B a las que deja desvalidas. Los animales con deficiencia congénita de C5 no toleran sus células T helper, que puedan utilizarse para romper la tolerancia en ratones normales.

dad anti-DNA; es decir, se corrigió la autorreactividad. Esto a menudo involucrará el reemplazo de una cadena liviana κ con un nuevo reordenamiento realizada en el locus de la cadena liviana λ y se asocia con la reexpresión de los genes *RAG-1/2*.

La mayoría de las células B periféricas en los ratones son ligandos seleccionados, como revela el análisis del repertorio V_H en el nivel del cDNA de las células pre-B en la médula ósea comparadas con las células B maduras del bazo. Una vez liberadas a la circulación periférica, el contenido de mezcla de células B es estable; las células B (y células T) de ganglio linfático provenientes de ratones no expuestos al antígeno sobreviven de manera cómoda por lo menos 20 meses cuando se transfieren a animales SCID con idénticos H-2.

La tolerancia puede ser resultado de células de B carentes de cooperación

Con las proteínas solubles al menos, las células T son tolerantes con más facilidad que las B (fig. 12-16) y, de acuerdo con la concentración de proteína circulante, puede haber ciertas células B autorreactivas presentes en el organismo que no pueden activarse por componentes propios dependientes de T, ya que las células T requeridas para proporcionar la colaboración necesaria T-B ya son tolerantes; se podría describir a las células B como desvalidas. Si consideramos el determinante en un componente propio que se combina con los receptores en una célula B autorreactiva como un hapteno y a otro determinante que tiene que ser reconocido por una célula T como un portador (véase fig. 9-11), entonces la tolerancia en la célula T para el portador evitará la provisión de célula T helper y la célula B será incapaz de responder. Tomemos como ejemplo a C5; éste por lo común circula en concentraciones que tornan tolerantes las células T pero no las células B. Algunas cepas murinas presentan una deficiencia congénita de C5 y sus células T pueden contribuir para que las cepas C5 positivas elaboren anticuerpos contra C5, es decir las cepas C5 positivas poseen células B inducibles pero están desvalidas y necesitan células T no tolerantes provenientes de la cepa C5 negativa (fig. 12-17).

Vale la pena destacar que la inyección de dosis elevadas de un antígeno soluble sin adyuvante, incluso cuando se administra varios días después de la inmunización primaria con ese antígeno, previene la emergencia de anticuerpos mutados de alta afinidad. Los experimentos de transferencia mostraron que las células T eran tolerantes. Esto indica que, incluso cuando una respuesta está bien encaminada, se necesitan las células T helper en los centros germinativos para permitir las mutaciones que conducen a la maduración de la afinidad de los anticuerpos y, como corolario adicional, que los autoantígenos solubles en los líquidos extracelulares

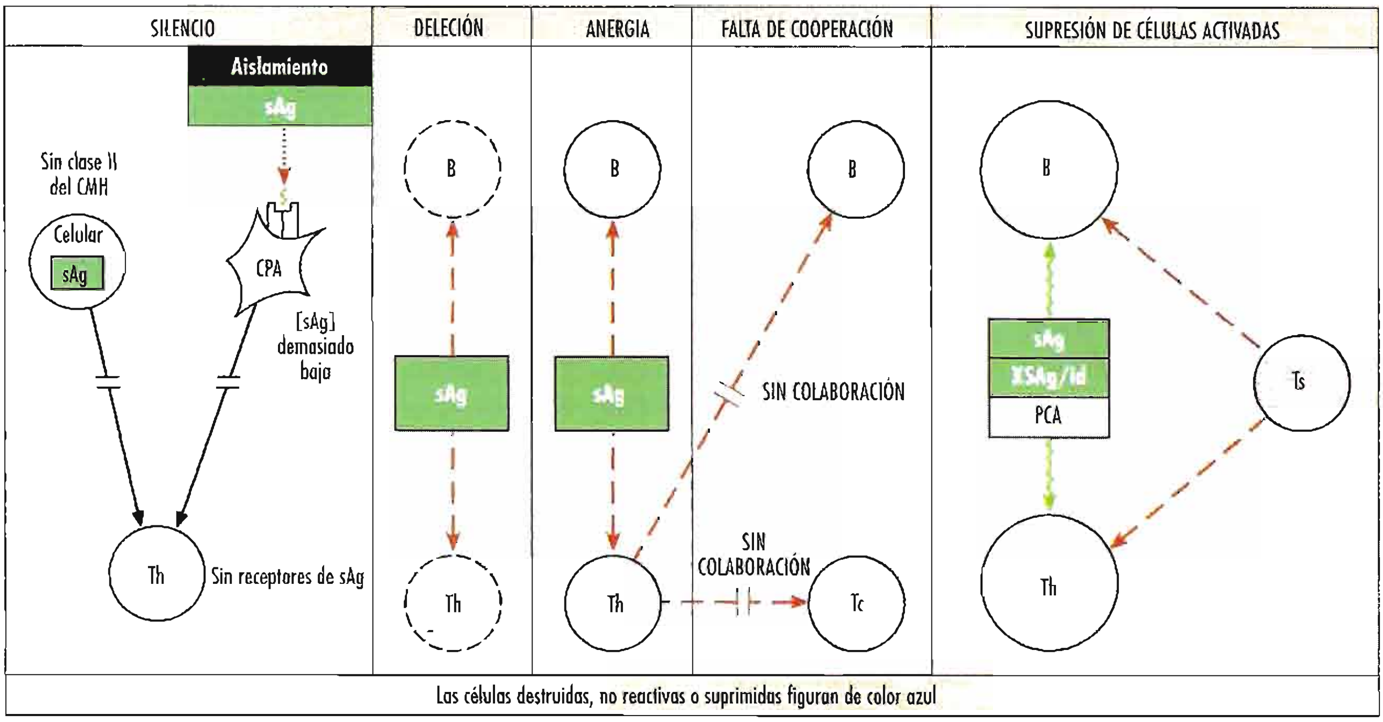

SILENCIO
DELECIÓN
ANERGIA
FALTA DE COOPERACIÓN
SUPRESIÓN DE CÉLULAS ACTIVADAS
Aislamiento
sAg
Sin clase II del CMH
Celular
sAg
CPA
[sAg] demasiado baja
Th
Sin receptores de sAg
B
sAg
Th
B
sAg
Th
B
SIN COLABORACIÓN
SIN COLABORACIÓN
Tc
B
sAg
XSAg/Id
PCA
Ts
Th
Las células destruidas, no reactivas o suprimidas figuran de color azul

Fig. 12-18. Mecanismos de autotolerancia (véase el texto). sAg, autoantígeno; XSAg/Id, antígeno o idiotipo que reacciona en forma cruzada; PCA, activador policlonal; CPA, célula presentadora de antígeno; Th, T helper; Ts, T supresora; Tc, precursora de célula T citotóxica.

pueden actuar para inactivar las células B autorreactivas que se originan por hipermutación en los centros germinativos.

Es probable que la autotolerancia tanto en las células B como en las T involucre todos los mecanismos que ya comentamos en grados variables y se resumen en la figura 12-18. Es importante recordar que durante la vida de un animal, las nuevas células madre sufren un proceso de diferenciación continuo para formar linfocitos inmunocompetentes y lo que es temprano en la ontogenia para ellos, puede ser tardío para el huésped; esto significa que los mecanismos de autotolerancia actúan también en los linfocitos prematuros incluso en el adulto, aunque siempre reconforta destacar que la concentración umbral para la inducción de la tolerancia es mucho más baja para las células pre-B en relación con las B maduras.

ONTOGENIA DE LAS CÉLULAS NATURAL KILLER (NK)

El linaje preciso de las células NK aún no se estableció. Comparten un progenitor prematuro común con las células T y expresan la molécula CD2 que también está presente en las células T. Además, poseen receptores IL-2, son inducidas a proliferar por IL-2 y producir IFNγ. La mayoría de las NK expresa CD56, una molécula también presente en una subpoblación de células T $CD4^+$ y $CD8^+$. Sin embargo, no se desarrollan en el timo, sus genes *V* del receptor de célula T no se reordenan y, a diferencia de las células T, expresan CD16 FcγRIII. Por consiguiente la visión actual es que se separan del linaje de células T muy temprano en su diferenciación.

RESPUESTA GLOBAL EN EL NEONATO

En el momento de nacer, los ganglios linfáticos y el bazo en los seres humanos presentan un subdesarrollo relativo, excepto en los casos en los que hubo exposición intrauterina a antígenos, como en las infecciones congénitas por rubéola u otros microorganismos. La capacidad de rechazar injertos y montar una respuesta de anticuerpos está desarrollada razonablemente bien en el momento del nacimiento, si bien los niveles de inmunoglobulina, con una excepción, son bajos, en particular en ausencia de infección intrauterina. La excepción es la IgG, adquirida por pasaje transplacentario a partir de la madre, un proceso dependiente de las estructuras Fc específi-

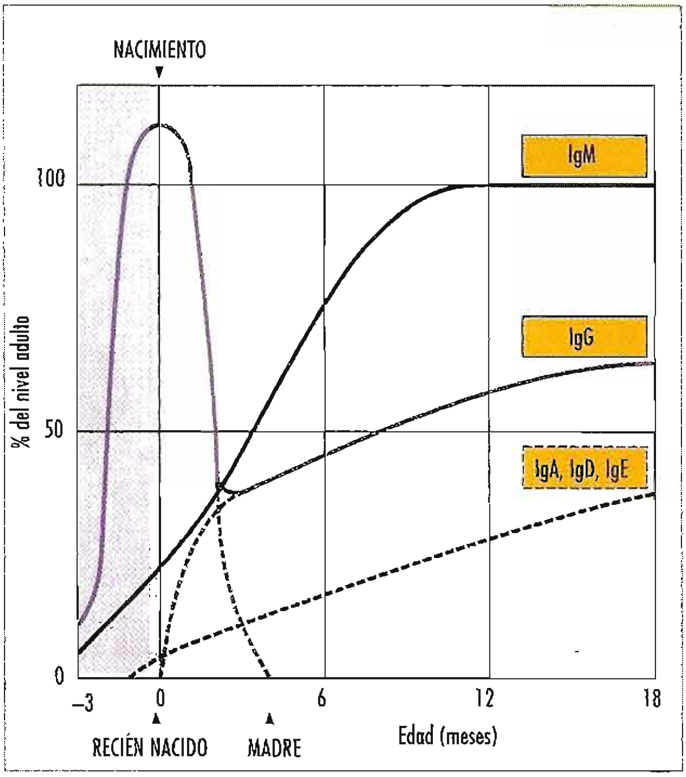


Fig. 12-19. Desarrollo de los niveles séricos de inmunoglobulina en los seres humanos. (Según Hobbs JR. [1969] En Adinolfi M. [ed.] *Immunology and Development*, pág. 118. Heinemann, Londres.)

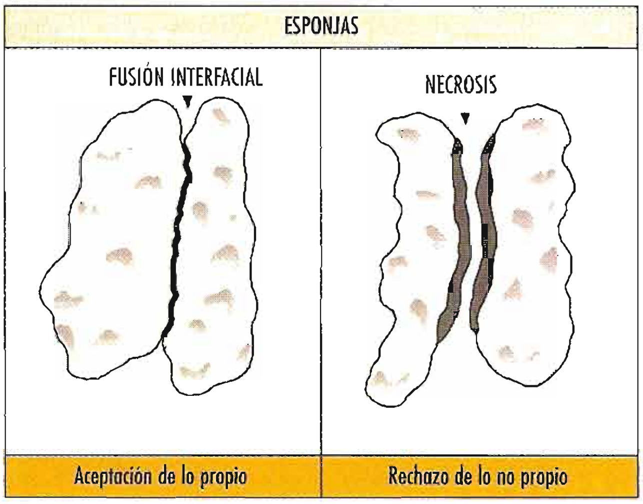


Fig. 12-20. Reconocimiento y rechazo de lo no propio. Los dedos parabiosados de la esponja marina provenientes de la misma colonia se unen de manera permanente, mientras que los miembros de colonias diferentes se rechazan entre sí alrededor de los 7- 9 días.

cas para esta clase de Ig. Este material se cataboliza con una vida media de alrededor de 30 días y hay una disminución en la concentración de IgG durante los primeros 3 meses acentuada por el aumento de la volemia del lactante que está en una etapa de crecimiento. Después de esto, la proporción de síntesis supera la de degradación de la IgG materna y la concentración global aumenta de manera continua. Las otras inmunoglobulinas no atraviesan la placenta y los niveles bajos pero significativos de IgM en sangre del cordón son sintetizados por el bebé (fig. 12-19). La IgM alcanza los niveles del adulto alrededor de los 9 meses. En la circulación del recién nacido sólo hay trazas de IgA, IgD e IgE.

EVOLUCIÓN DE LA RESPUESTA INMUNE

Los invertebrados poseen mecanismos de defensa antimicrobianos

Los mecanismos para el reconocimiento y el **rechazo** posterior **de lo no propio** pueden identificarse en los invertebrados tan abajo en la escala evolutiva como en las esponjas marinas, consideradas de manera habitual el más primitivo de los animales presentes en la actualidad (fig. 12-20). La fagocitosis es de importancia en todo el reino animal (véase hito 1.1, capítulo 1). En muchos filos, se incrementa cuando las aglutininas y bactericidinas son capaces de unirse a los PAMP (en inglés *p*athogen-*a*ssociated *m*olecular *p*atterns; patrones moleculares asociados con patógenos) en la superficie microbiana, de modo que proporcionan la base para el reconocimiento de lo "no propio". Es notable que la **infección induce de modo muy rápido la síntesis de una batería impresionante de péptidos antimicrobianos** en los insectos más evolucionados después de la activación de factores de la transcripción que se unen a los motivos homólogos de la secuencia del promotor de los elementos reguladores involucrados en la respuesta de la fase aguda de los mamíferos. Así, la molécula que permite la entrada en la drosofilas es un receptor para PAMP que activa NFκB en estas moscas. La drosofila con una pérdida de la función de mutación en la entrada es susceptible a las infecciones micóticas. Entre los péptidos antimicrobianos producidos por los insectos se incluyen péptidos cíclicos con puentes disulfuros, como las defensinas antigrampositivos de 4 kDa y el péptido antimicótico de 5 kDa drosomicina. Los péptidos lineales inducibles por la infección son las cecropinas y una serie de polipéptidos con alto contenido en glicina o prolina antigramnegativos. Las cecropinas, que también se identificaron en mamíferos, son α-hélices anfipáticas fuertemente catiónicas de 4 kDa que causan desintegración letal de las membranas bacterianas mediante la creación de canales de iones.

Los elementos de un sistema de complemento primordial también existen entre los órdenes más inferiores. Un inhibidor de proteasa, una α_2-macroglobulina homóloga desde el punto de vista estructural a C3 con tioléster interno, está presente en el cangrejo en herradura. Es concebible que esto pudiera representar una versión ancestral de C3 que se activa por las proteasas liberadas en un sitio de infección, depositado sobre el microbio y reconocido como un ligando para las células fagocíticas. El receptor del complemento CR3 es una integrina, y las integrinas relacionadas en los insectos pueden albergar antepasados comunes. La mención del cangrejo en herradura puede haber agitado una red neuronal en los lectores con buena memoria para recordar la síntesis de su limulina (véase pág. 17), que es homóloga a la proteína C reactiva de la fase aguda de los mamíferos; tal vez actúa como lectina para opsonizar las bacterias y es probable que sea un producto de línea evolutiva que conduce por último al C1q, proteína de unión a la manosa y surfactante del pulmón.

La otra estrategia importante que despliegan con eficacia los vertebrados es el aislamiento del microorganismo invasor. Por ejemplo, esto se logra por medio de cascadas proteolíticas que producen un coágulo de hemolinfa "gelificada" alrededor del microorganismo agresor.

Por favor, no pasemos por alto las plantas. Los vegetales superiores desarrollan un "estado inmune" de **resistencia adquirida sistémica** (RAS), que puede establecerse luego de una infección localizada con patógenos que inducen lesiones que involucran la muerte celular del huésped. La RAS persiste durante varias semanas y se extiende a un amplio espectro de patógenos bacterianos, virales y micóticos más allá del agente infeccioso inicial. Una serie de genes de RAS codifica una amplia variedad de proteínas microbicidas que pueden inducirse por medio de mediadores químicos endógenos, como ácido salicílico y ácido metil-2,6-dicloroisonicotínico. Una función del ácido salicílico es unirse a una proteína con actividad de catalasa, lo que incrementa el H_2O_2, pero, mientras esto puede contribuir con una respuesta defensiva aguda, se piensa que otros mecanismos están involucrados en la inducción de RAS.

Las respuestas inmunes adaptativas aparecen con los vertebrados

Vertebrados inferiores

Los linfocitos y las respuestas T y B adaptativas genuinas no emergen en el árbol filogenético hasta que llegamos a los vertebrados, aunque no pueden desencadenarse en el vertebrado más primitivo estudiado, la lamprea de California. Este ciclóstomo desagradable (que toma como presa peces moribundos, se introduce en sus bocas y come su carne desde el interior) puede responder a la hemocianina siempre que se mantenga a temperaturas que se aproximan a los 20ºC (en general, los poiquilotermos elaboran anticuerpos mejores a temperaturas más altas), pero las inmunoglobulinas verdaderas no están involucradas. Más arriba en la escala evolutiva, en los peces cartilaginosos, en la actualidad se determinaron inmunoglobulinas bien definidas 18S y 7S con cadenas pesadas y livianas, pero las respuestas son *T-independientes.*

Aparecen las células T

El sapo, *Xenopus*, si bien desagradable, es una especie dócil para el estudio, ya que es posible obtener con bastante facilidad renacuajos transgénicos y clonados, y posee un sistema linfoide menos complejo que el de los mamíferos, caracterizado por una cantidad pequeña de linfocitos y un repertorio de anticuerpos restringido, sujeto a mutación somática. Además, en las hembras se demostró la selección tímica positiva y negativa.

La aparición de un timo verdadero en los teleósteos (peces óseos), anfibios, reptiles, pájaros y mamíferos de hecho se asoció con las moléculas del CMH, la inmunidad mediada por células, las células T citotóxicas y el rechazo de aloinjertos. Podría argumentarse que también comprobamos la presencia de células B-1 (CD5 positivas), más antiguas desde el punto de vista filogenético, unidas por una nueva población B T-dependiente. Sin embargo, las respuestas de anticuerpo secundarias rápidas heterogéneas de alta afinidad dependientes de las células T sólo se observan con los vertebrados de sangre caliente, como pájaros y mamíferos, y éstos se correlacionan directamente con la evolución de centros germinales.

Generación de la diversidad de anticuerpos

Los mecanismos para la generación de diversidad de anticuerpos reciben un énfasis bastante diferente según la especie involucrada. Ya estamos familiarizados con el sistema de los mamíferos, en el que numerosos genes *V* se amplifican en gran parte por una variedad de acontecimientos de recombinación entre los que se incluyen múltiples segmentos de *D* y *J*. El tiburón con astas también posee muchos genes *V*, pero las oportunidades de uniones combinatorias están muy limitadas por el íntimo ligamiento entre los segmentos individuales *V, D, J* y *C*, y esto puede ser un factor en la respuesta de anticuerpos restringida de esta especie. En nítido contraste, en los pollos parece haber sólo un gen *V* operativo en el locus de la cadena liviana, pero sufre una amplia diversificación somática mediante el uso de seudogenes *V* no funcionales contiguos, en un proceso similar al de la conversión génica somática. Los amantes de los camellos deben notar que no sólo sobreviven con una pequeña cantidad de agua sino que, al igual que las llamas, también lo hacen con anticuerpos que carecen de cadenas livianas.

LA EVOLUCIÓN DE LOS DISTINTOS LINAJES DE CÉLULAS T Y B SE ACOMPAÑÓ DEL DESARROLLO DE SITIOS SEPARADOS PARA LA DIFERENCIACIÓN

Los efectos diferenciales de la bursectomía y la timectomía en el pollo sobre las posteriores respuestas humorales y celulares prepararon la manera para que por último pudiéramos reconocer los linajes separados que cumplen estas funciones. Como el timo, la bolsa de Fabricio se desarrolla como una evaginación embrionaria del endodermo intestinal, esta vez a partir del intestino posterior en lugar del anterior, y proporciona el microambiente para acunar las células madre entrantes y dirigir su diferenciación en linfocitos B inmunocompetentes. Como puede verse en el cuadro 12-4, la bursectomía neonatal tuvo un efecto profundo en los niveles globales de inmunoglobulinas y en la producción de anticuerpos específicos luego de la inmunización, pero no influyó de manera indebida sobre la respuesta de hipersensibilidad retardada mediada por células (HR) a la tuberculina ni afectó el rechazo de injerto. Por otro lado, la timectomía comprometió en gran medida las reacciones mediadas por células e inhibió la producción de anticuerpos a la mayoría de los antígenos proteicos.

Cuadro 12-4. *Efecto de la bursectomía y la timectomía neonatales en el desarrollo de competencia inmunitaria en el pollo.* (De Cooper MD, Peterson RDA, *South MA, Good RA [1966]* Journal of Experimental Medicine **123**, *75, con autorización de los editores.)*

Todos recibieron irradiación X después del nacimiento	Recuento de linfocitos en sangre periférica	Conc. de Ig	Anticuerpo	Reacción cutánea retardada a la tuberculina	Rechazo de injerto
Intacto	14.800	++	+++	++	+++
Timectomizado	9.000	++	+	–	+
Bursectomizado	13.200	–	–	+	+

La localización anatómica distintiva del sitio de diferenciación celular en un órgano linfoide separado en el pollo fue de inmenso valor para realizar avances en este campo, porque permitió llevar a cabo los tipos de experimentos mencionados antes. Sin embargo, pasaron muchos años en una búsqueda infructuosa del equivalente de la bolsa de Fabricio en los mamíferos antes de que se comprendiera que el sitio primario para la generación de células B se realizaba en la propia médula ósea.

LAS MOLÉCULAS DE RECONOCIMIENTO CELULARES SE APROVECHAN DE LA SUPERFAMILIA DEL GEN DE INMUNOGLOBULINA

Cuando la naturaleza se pone en contacto de manera fortuita con una estructura proteica ("motivos" es la palabra clave) que media con éxito alguna función útil, las fuerzas selectivas de la evolución aseguran que se la aproveche bien. Así, todas las moléculas involucradas en el reconocimiento del antígeno que describimos con detalle en los capítulos 3 y 4 son miembros de una superfamilia de genes relacionada por su secuencia y tal vez por un ancestro común. Todos los miembros polipeptídicos de esta familia, que incluye las cadenas de Ig pesada y liviana, las cadenas α y β del receptor de células T, las moléculas clase I y II del CMH, y la β_2 microglobulina, están compuestos por una o más unidades de homología inmunoglobulínica. Cada unidad está constituida por alrededor de 110 aminoácidos y se caracteriza por ciertos residuos conservados alrededor de dos cisteínas encontradas en cada dominio y aminoácidos hidrófobos e hidrófilos alternantes que dan lugar a las cadenas plegadas β antiparalelas familiares con longitudes variables cortas que tienen una propensión marcada para formar giros inversos –en resumen, el "**plegamiento inmunoglobulínico**"– (véase pág. 45).

Se centró la atención en una característica muy importantes de la estructura del dominio de Ig, como la complementariedad mutua que permite fuertes interacciones no covalentes entre los dominios, como los que hay entre V_H y V_L y las dos regiones C_H3 que forman el fragmento pFc′ de la IgG. La duplicación y la diversificación del gen pueden crear familias mutuas de moléculas que interactúan, como CD4, con la molécula clase II del CMH, CD8 con la molécula clase II del CMH e IgA con el receptor poli-Ig (fig. 12-21). Asimismo, las moléculas de adhesión intercelular ICAM-1 y N-CAM (fig. 12-21) poseen una buena dotación de estos dominios y la larga historia evolutiva de N-CAM sugiere con firmeza que estas estructuras hicieron una aparición temprana en la filogenia como mediadores de reconocimiento celular. En las esponjas marinas, se encuentran estructuras de la superfamilia de Ig tanto en la porción extracelular del receptor de tirosina cinasa (RTK) como en las moléculas de reconocimiento celular recientemente descritas (CRM); se considera que ambas están involucradas en el rechazo de aloinjerto. Un rastreo reciente del banco de datos sobre secuencia de proteínas reveló centenares de miembros conocidos de la superfamilia de Ig. ¡Vaya familia!

Las **integrinas** forman otra superfamilia estructural en la que se incluyen varias moléculas de la superficie de células hematopoyéticas relacionadas con la adhesión a las proteínas de la matriz extracelular y a los ligandos de la superficie celular; su función es dirigir los leucocitos a sitios tisulares particulares (véase el desarrollo en la pág. 223).

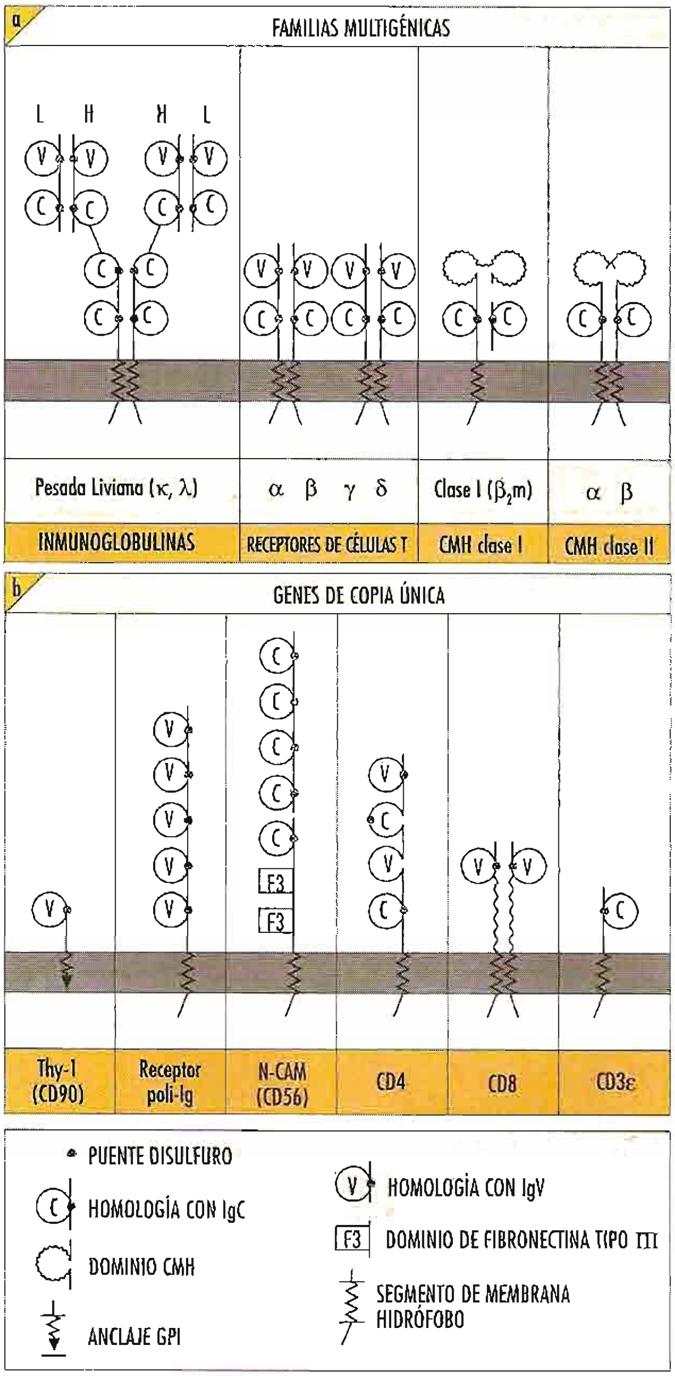


Fig. 12-21. La superfamilia de inmunoglobulinas comprende un gran número de moléculas de superficie que comparte una estructura común, el dominio tipo inmunoglobulina, lo que sugiere la evolución de un solo gen primordial ancestral. Se muestran sólo algunos ejemplos. **a)** Las familias multigénicas involucradas en el reconocimiento del antígeno (se incluye la copia única de β_2-microglobulina debido a su asociación con la clase I). **b)** Genes de copia única. Thy-1 está presente en las células T y en las neuronas. El receptor poli-Ig transporta la IgA a través de las membranas mucosas. N-CAM es una molécula de adhesión que une las neuronas entre sí. También se encuentra en las células NK y en una subpoblación de células T, pero se desconoce su función en estas células linfoides. (Reimpreso con autorización de *Nature* 323, 15. © 1986, Macmillan Magazines Ltd., con alguna actualización.)

RESUMEN

Las células madre multipotenciales que provienen de la médula ósea dan origen a todos los elementos formes de la sangre

- La expansión y la diferenciación son inducidas por los factores de crecimiento solubles (estimuladores de colonias) y el contacto con las células reticulares de la estroma.

La diferenciación de células T se produce dentro del microambiente del timo

- Los precursores de células T que se originan de las células madre en la médula ósea necesitan viajar al timo bajo la influencia de quimiocinas con el objeto de convertirse en células T inmunocompetentes.

Ontogenia de células T

- La diferenciación de subpoblaciones de células T inmunocompetentes está acompañada por cambios en el fenotipo de superficie que puede reconocerse con anticuerpos monoclonales.
- Los genes para TCR se reordenan en la corteza del timo, lo que produce un TCR $\gamma\delta$ o un pre-TCR $\alpha\beta$, que presenta un pre-Tα invariante asociado con un Vβ convencional, antes del reordenamiento final del Vα para generar el TCR $\alpha\beta$.
- Se inducen y expanden células pre-T doble negativas CD4$^-$8$^-$, probablemente mediadas por Notch y otras señales, para convertirse en CD4$^+$8$^+$ doble positivos.
- Las células epiteliales del timo **seleccionan de manera positiva** células T CD4$^+$8$^+$ con avidez para su haplotipo del CMH de modo que se desarrollan células T simple positivas CD4$^+$ o CD8$^+$ restringidas para el reconocimiento del antígeno en el contexto del haplotipo de las células epiteliales.

Tolerancia de células T

- Se necesita la inducción de la tolerancia inmunitaria para evitar la autorreactividad.
- Las células T con alta avidez que reaccionan con los antígenos propios presentados por los macrófagos y las células dendríticas con interdigitaciones corticomedulares son eliminadas por **selección negativa**. El paradigma de que la unión de baja avidez al CMH-péptido produce selección positiva y alta avidez negativa, es probable que en gran medida sea cierto, pero puede requerir alguna enmienda.
- La tolerancia a lo propio también puede lograrse por anergia.
- Las células anérgicas adheridas a la célula dendrítica pueden regular hacia abajo la capacidad de la célula presentadora de antígeno, lo que produce anergia infecciosa.
- Un estado en el que se produce autotolerancia eficaz aparece cuando hay una falla para presentar de modo adecuado un antígeno propio a los linfocitos, ya sea por compartimentalización, falta de moléculas clase II en la célula presentadora de antígeno o baja concentración de péptido-CMH (epítopo críptico propio).
- Es probable que la supresión T esté más involucrada en revertir la autoinmunidad que en prevenirla.

Las células B se diferencian en hígado fetal y luego en la médula ósea

- Las células B se convierten en inmunocompetentes después de pasar por los estadios de células pro-B, pre-B y B inmadura.
- La expresión *Pax5* es esencial para la progresión del estadio pre-B a célula B inmadura.

B 1 y B 2 representan dos subpoblaciones distintas de células B

- Las células B-1 representan una población menor que expresa alta concentración de sIgM y baja de sIgD. Las células B-1a son CD5$^+$, las células B-1b son CD5$^-$. La mayoría de las células B convencionales, es decir la población B-2, posee alto contenido de sIgM^{lo}, alto contenido de sIgD^{hi}, CD5$^-$. La población B-1 predomina en la vida temprana, muestra un alto nivel de conectividad idiotipo-antiidiotipo; produce baja afinidad, anticuerpos IgM polirreactivos, muchos de ellos autoanticuerpos, y es responsable de los anticuerpos antibacterianos IgM "natural" independiente de T que aparecen de manera espontánea.

Desarrollo de la especificidad de células B

- La secuencia de los reordenamientos del gen variables de Ig son *DJ* y luego *VDJ*.

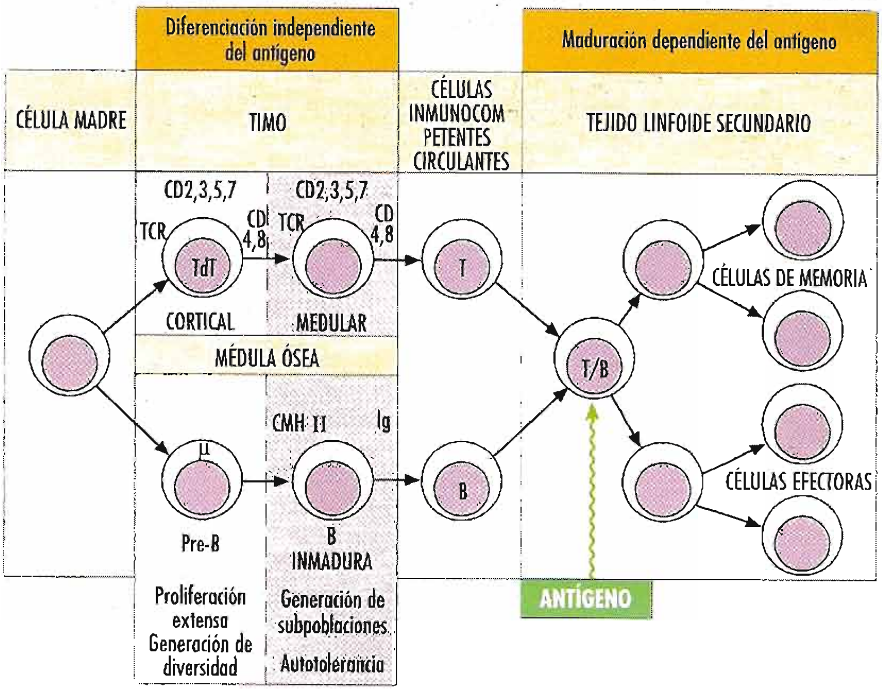

Diferenciación independiente del antígeno
Maduración dependiente del antígeno
CÉLULA MADRE
TIMO
CÉLULAS INMUNOCOMPETENTES CIRCULANTES
TEJIDO LINFOIDE SECUNDARIO
CD2,3,5,7
CD2,3,5,7
TCR
TCR
CD4,8
CD4,8
TdT
T
T/B
CÉLULAS DE MEMORIA
CORTICAL
MEDULAR
MÉDULA ÓSEA
CMH II
Ig
μ
B
Pre-B
B INMADURA
CÉLULAS EFECTORAS
ANTÍGENO
Proliferación extensa
Generación de diversidad
Generación de subpoblaciones
Autotolerancia

Fig. 12-22. Diferenciación independiente del antígeno y maduración dependiente del antígeno de las células T y B. Los timocitos corticales se seleccionan de modo positivo para reconocer el haplotipo propio del CMH. TdT, enzima desoxinucleotidil transferasa terminal.

- La transcripción *VDJ* produce cadenas μ que se asocian con V_{preB}. Las cadenas $\lambda 5$ forman un receptor de superficie sustituto tipo IgM.
- Este receptor señala la exclusión alélica de cadenas pesadas no ordenadas e inicia el reordenamiento de $V\text{-}J_{\kappa}$ (en el ratón) y, si no es productiva, $V\text{-}J_{\lambda}$.
- Si el reordenamiento en cualquier fase es improductivo, es decir, no conduce a un marco de lectura aceptable, se reordena el alelo en la cromátide hermana.
- Los mecanismos de exclusión alélica aseguran que cada linfocito se programe para un solo anticuerpo. Las respuestas contra diferentes antígenos aparecen en forma secuencial con la edad.

Inducción de tolerancia en los linfocitos B

- La tolerancia de las células B es inducida por deleción clonal, anergia clonal, corrección del receptor y "falta de cooperación", debido a una tolerancia preferencial de las células T necesarias para cooperar en la estimulación de células B.

Ontogenia de las células natural killer (NK)

- Las células NK comparten un progenitor prematuro con las células T, pero separado del linaje de células T tempranas, y se desarrollan en algún lugar distinto del timo.

Respuesta global en el neonato

- La IgG materna atraviesa la placenta y proporciona un nivel alto de inmunidad pasiva en el momento del nacimiento.

La diferenciación independiente del antígeno dentro de los órganos linfoides primarios y la maduración inducida por el antígeno en los órganos linfoides secundarios se resumen en la figura 12-22.

Evolución de la respuesta inmune

- El reconocimiento de lo propio es de importancia fundamental para los organismos multicelulares, incluso en las formas inferiores como las esponjas marinas.
- Los invertebrados poseen mecanismos de defensa basados en la fagocitosis, producen la muerte por una variedad de metabolitos peptídicos y polifenoloxidasa microbicidas, y atrapamiento del invasor por coagulación de la hemolinfa.
- Los vegetales superiores pueden establecer un estado de resistencia adquirida sistémica persistente.
- Las respuestas de células B y T están bien definidas en los vertebrados y la evolución de estos linajes distintos se acompañó por el desarrollo de sitios separados para la diferenciación.

CAPÍTULO 13

Estrategias de los adversarios durante la infección

www.el12cirujano.blogspot.com/

- **Introducción, 281**
- **Revisión de la inflamación, 281**
  - Mediadores de la inflamación, 282
  - Los leucocitos se unen a las células endoteliales mediante moléculas de adhesión apareadas, 282
  - Iniciación de la respuesta inflamatoria aguda, 282
  - Proceso inflamatorio en curso, 283
  - Regulación y resolución de la inflamación, 286
  - Inflamación crónica, 286
- **Bacterias extracelulares susceptibles de ser destruidas por fagocitosis y complemento, 286**
  - Estrategias para la supervivencia bacteriana, 286
  - El contraataque del huésped, 289
  - Algunas infecciones bacterianas específicas, 294
- **Bacterias que se desarrollan en un hábitat intracelular, 297**
  - Artimañas bacterianas, 297
  - La defensa se produce por inmunidad mediada por células T (IMC), 297
  - Los macrófagos activados destruyen los parásitos intracelulares, 297
  - Ejemplos de infecciones bacterianas intracelulares, 298
- **Inmunidad contra la infección viral, 300**
  - La inmunidad puede eludirse por cambios del antígeno, 301
  - Los virus pueden interferir con los mecanismos efectores inmunes, 303
  - Protección por anticuerpos séricos, 304
  - Factores locales, 304
  - La inmunidad mediada por células puede llegar hasta el virus intracelular, 305
- **Inmunidad contra los hongos, 307**
- **Inmunidad contra las infecciones parasitarias, 307**
  - Las respuestas del huésped, 307
  - Las estrategias evasivas del parásito, 311
  - Encefalopatías espongiformes transmisibles, 313
  - Inmunopatología, 313
- **Resumen, 314**
- **Lecturas adicionales, 317**

INTRODUCCIÓN

Estamos comprometidos en una guerra constante con los microbios que nos rodean y los procesos de mutación y evolución tendieron a seleccionar los microorganismos que desarrollaron los medios para evadir nuestros mecanismos de defensa. Los patógenos continúan produciendo un costo extraordinario (fig. 13-1), en particular en el mundo en vías de desarrollo. Además, el descenso de la mortalidad por enfermedades infecciosas que se había visto en países como los Estados Unidos retrocedió, con una elevación de las muertes por enfermedades infecciosas en ese país en una proporción del 4,8% por año entre 1981 y 1995. Se produjo tanto una emergencia de nuevas infecciones como una reemergencia de algunos viejos adversarios. Entre la nómina actual de problemas figuran: enfermedad de los legionarios, HIV, ébola, nvCJD, *E. coli*, *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM), síndrome de shock tóxico y enfermedad de Lyme. La resistencia de cepas de SARM a los fármacos de último recurso, como vancomicina, es, para decirlo en términos suaves, preocupante. Además, cada vez se aprecia más que los agentes infecciosos se relacionan con enfermedades "no infecciosas", como la asociación entre *Helicobacter pylori* y úlcera péptica, y de varios virus con cáncer. En este capítulo observamos las diversas estrategias, a menudo ingeniosas, que nuestros adversarios y nosotros desarrollamos a lo largo de períodos muy prolongados.

REVISIÓN DE LA INFLAMACIÓN

El proceso inflamatorio agudo involucra el ingreso protector de leucocitos, complemento, anticuerpos y otras proteínas del plasma al sitio de infección o lesión, y se trató con amplitud en los capítulos introductorios. Ahora que estamos listos para estudiar con más detalle las estratagemas agresivas y los astutos contraataques que caracterizan el conflicto entre el microorganismo y el huésped, es apropiado reexaminar los mecanismos de la inflamación con mayor profundidad. El lector puede en-

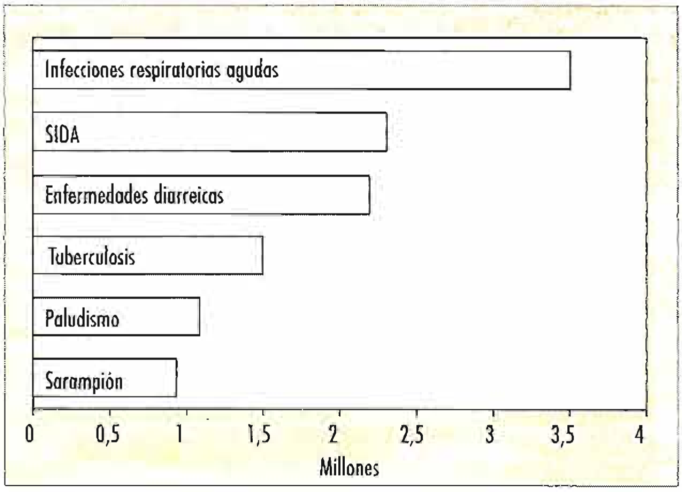


Fig. 13-1. Muertes por enfermedades infecciosas. Estas seis enfermedades causaron casi el 90% de los 13 millones de muertes por enfermedades infecciosas en todo el mundo, estimado por la Organización Mundial de la Salud durante 1998. Para más información, véase http://www.who.int /infectious-disease-report.

contrar útil otra mirada en las secciones relevantes en los capítulos 1 y 2, en particular las relacionadas con las figuras 1-15, 1-16, 1-17 y 2-18.

Mediadores de la inflamación

Una variedad compleja de mediadores participa en las respuestas inflamatorias agudas (fig. 13-2). Algunos actúan en forma directa en la pared del músculo liso que rodea las arteriolas para alterar el flujo sanguíneo. Otros actúan sobre las vénulas para causar la contracción de las células endoteliales con apertura de las uniones interendoteliales y consecuente trasudación de plasma. La migración de los leucocitos desde el torrente sanguíneo está facilitada por los mediadores que regulan en más la expresión de las moléculas de adhesión tanto en células endoteliales como en glóbulos blancos y otros que conducen a los leucocitos al sitio inflamado por medio de un proceso de quimiotaxis.

Los leucocitos se unen a las células endoteliales mediante moléculas de adhesión apareadas

Redirigir los leucocitos que avanzan por la sangre al sitio de inflamación es algo así como tener que animar a los toros que huyen en tropel por la calle principal de Pamplona para que pasen de manera pacífica por las laterales. Hemos tenido la ocasión de confrontar este problema al referirnos a los linfocitos guía (véase pág. 168, fig. 8-6) y, en el contexto presente, la adherencia de los leucocitos a la pared endotelial de los vasos a través de la interacción complementaria de la unión de moléculas de la superficie celular es un paso absolutamente crucial. Varias clases de moléculas cumplen esta función (véase pág. 169, cuadro 8-3), algunas actúan como lectinas para unir un ligando de hidrato de carbono con una pareja complementaria.

Iniciación de la respuesta inflamatoria aguda

Un acontecimiento muy temprano es la regulación en más de la selectina-P y del factor activador de plaquetas (PAF) en las células endoteliales que recubren las vénulas por histamina o trombina liberadas por el estímulo inflamatorio original. El reclutamiento de estas moléculas provenientes de las vesículas de reserva intracelular asegura que aparezcan en el término de minutos sobre la superficie celular. La ocupación del dominio tipo lectina en el extremo de la molécula de selectina-P con los determinantes del hidrato de carbono sialil Lewis^x en la glucoproteína selectina-P tipo mucina del ligando-1 (PSGL-1) ubicada en la superficie del neutrófilo produce la lentificación de la célula y que ésta **ruede** a lo largo de la pared endotelial, a la vez que contribuye para que el PAF se fije en su correspondiente receptor. Esto, a su vez, aumenta la expresión superficial de las integrinas como la molécula asociada con la función linfocítica-1 (en inglés, *l*ymphocyte *f*unction-*a*ssociated molecule-1; LFA-1) y Mac-1, que ahora unen con mucha firmeza el neutrófilo con la superficie del endotelio (fig. 13-3).

La activación de los neutrófilos también los torna más sensibles a los agentes quimiotácticos y, bajo la influencia de C5a y leucotrieno-B4, salen de la circulación por movimientos activos a través de las brechas entre las células endoteliales, cruzando la membrana basal (**diapédesis**) y a favor del gradiente quimiotáctico hacia el sitio de inflamación.

El daño al endotelio vascular que expone la membrana basal y las toxinas bacterianas, como LPS, sirve de gatillo para otros sistemas complejos (fig. 13-4). La activación de las plaquetas por el contacto con el colágeno de la membrana basal o endotelial inducido por el PAF conduce a la agregación y la formación de **trombos** por la adherencia por medio de la glucoproteína Ib de las plaquetas al factor de von Willebrand en la superficie vascular. Estos tapones plaquetarios son aptos para detener la

ACCIÓN DEL MEDIADOR

	DILATACIÓN	CONSTRICCIÓN	AUMENTO DE LA PERMEABILIDAD	REGULACIÓN EN MÁS DE LAS MOLÉCULAS DE ADHESIÓN		QUIMIOTAXIS DEL PMN
				ENDOTELIO	PMN	
HISTAMINA	+		+	++		
BRADICININA	+		++			
PGE_2/I_2	+++		Potencia otros mediadores			
VIP	+++					
ÓXIDO NÍTRICO	+++		+++			
LEUCOTRIENO-D4		+				
LEUCOTRIENO-C4		++	+			
C5a			++	+	++	+++
LEUCOTRIENO B-4			++		++	+++
F. MET. LEU. FEN			++		+	+
FACTOR ACTIVADOR DE PLAQUETAS	+		++		++	
IL-8					+++	+++
NAP-2 (CXCL7)					++	++
IL-1				++	++	
TNF				++	++	

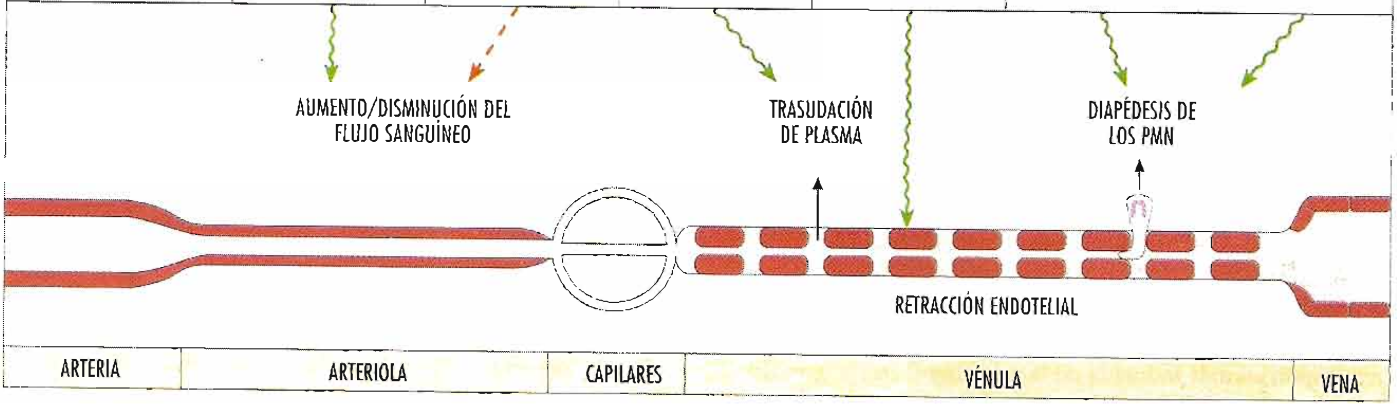


Fig. 13-2. Mediadores principales de la inflamación aguda. El lector debe referirse a la figura 1-15 para recordar la diversidad de los productos generados por el mastocito. Las citocinas que actúan de modo más tardío, como la interleucina-1 (IL-1), provienen en gran medida de los macrófagos, y estas células también secretan prostaglandina E_2 (PGE_2), leucotrieno-B4 y la quimiocina activadora de neutrófilos NAP-2 (CXCL7). PMN, neutrófilo polimorfonuclear; VIP, péptido intestinal vasoactivo; TNF, factor de necrosis tumoral.

pérdida de sangre proveniente de una arteria dañada, pero en el sistema venoso el sitio dañado se sella por un **coágulo de fibrina** que se produce por la activación del sistema de coagulación intrínseco por el contacto del factor de Hageman (factor XII) con la superficie expuesta de la membrana basal. El factor de Hageman activado también estimula las cininas y los sistemas plasmina, varios de los productos resultantes influyen en el proceso inflamatorio mediante el aumento de la permeabilidad vascular, la activación del endotelio, la amplificación autocatalítica de la producción del factor de Hageman XII y la escición de C3 (fig. 13-4).

Proceso inflamatorio en curso

Uno no debe ignorar el papel del macrófago tisular que, bajo el estímulo de la infección o lesión local, secreta una serie imponente de mediadores. En particular, las citocinas interleucina-1 (IL-1) y el factor de necrosis tumoral (TNF) actúan en un

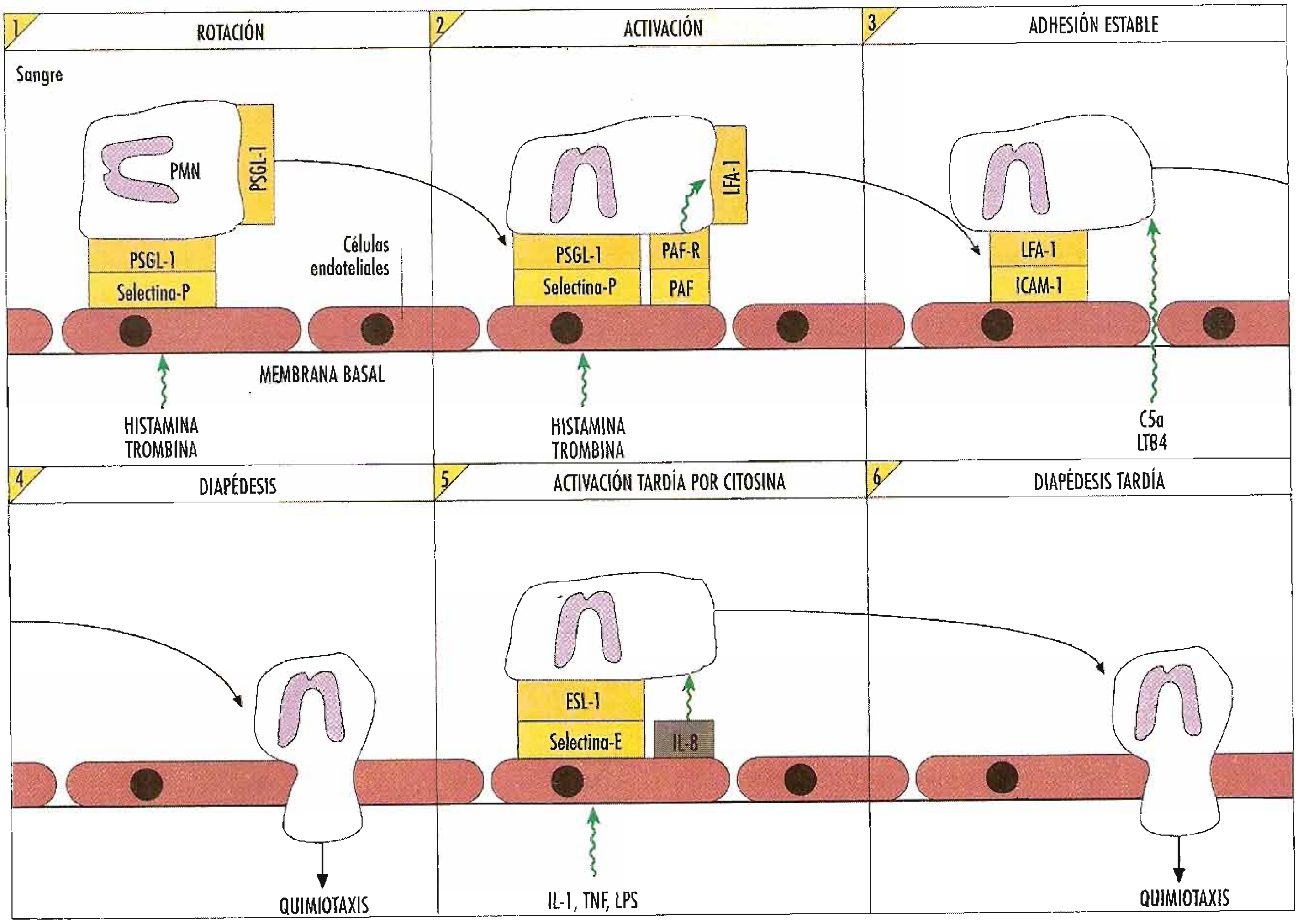

1 ROTACIÓN
Sangre
PMN
PSGL-1
PSGL-1
Selectina-P
Células endoteliales
MEMBRANA BASAL
HISTAMINA
TROMBINA
2 ACTIVACIÓN
LFA-1
PSGL-1
Selectina-P
PAF-R
PAF
HISTAMINA
TROMBINA
3 ADHESIÓN ESTABLE
LFA-1
ICAM-1
C5a
LTB4
4 DIAPÉDESIS
QUIMIOTAXIS
5 ACTIVACIÓN TARDÍA POR CITOSINA
ESL-1
Selectina-E
IL-8
IL-1, TNF, LPS
6 DIAPÉDESIS TARDÍA
QUIMIOTAXIS

Fig. 13-3. Acontecimientos tempranos en la inflamación que afectan la marginación de los neutrófilos y la diapédesis. La regulación en más inducida de la selectina-P en las paredes de los vasos sanguíneos cumple un papel importante en la interacción inicial leucocito-endotelio (rotación) por la interacción con ligandos sobre los neutrófilos, como la glucoproteína selectina-P tipo mucina del ligando-1 (PSGL-1, CD162). El reconocimiento de gradientes extracelulares de los mediadores quimiotácticos por los receptores en la superficie de los neutrófilos polimorfonucleares (PMN) desencadena señales intracelulares que generan el movimiento. Los neutrófilos se arrastran en lugar de nadar y la migración a lo largo de la vitronectina de la matriz extracelular depende de ciclos muy rápidos de adhesión y separación dependientes de integrina y regulados por la calcineurina. La expresión de la selectina-E inducida por citosina, que es reconocida por la glucoproteína selectina-E del ligando-1 (ESL-1) en el neutrófilo, se presenta como un episodio tardío. Los factores quimiotácticos, como la IL-8 secretada por varios tipos celulares incluso el propio endotelio, son mediadores importantes del proceso inflamatorio. (Compárense los acontecimientos que participan en la guía y la transmigración de los linfocitos, fig. 8-6.)

momento más tardío que la histamina o la trombina para estimular las células endoteliales y mantener el proceso inflamatorio por regulación en más de la selectina E y la expresión sostenida de selectina P. Así, la expresión de selectina E se produce 2-4 horas después de la iniciación de la inflamación aguda, que depende de la activación de la transcripción del gen. La selectina E ocupa la glucoproteína del ligando 1 de la selectina E (ESL-1) en el neutrófilo. Otros componentes tardíos son **quimiocinas** (cito*cinas* q*imio*tácticas), IL-8 (CXCL8) y el atrayente epitelial derivado de neutrófilo 78 (ENA-78, CXCL5), que son quimioatrayentes de neutrófilos muy efectivos. IL-1 y TNF también actúan sobre las células endoteliales, los fibroblastos y células epiteliales para estimular la secreción de otra quimiocina, MCP-1 (CCL2), una proteína quimiotáctica para diferentes tipos celulares que es en particular potente para atraer fagocitos mononucleares al sitio inflamatorio con el fin de fortalecer y mantener la reacción defensiva contra la infección.

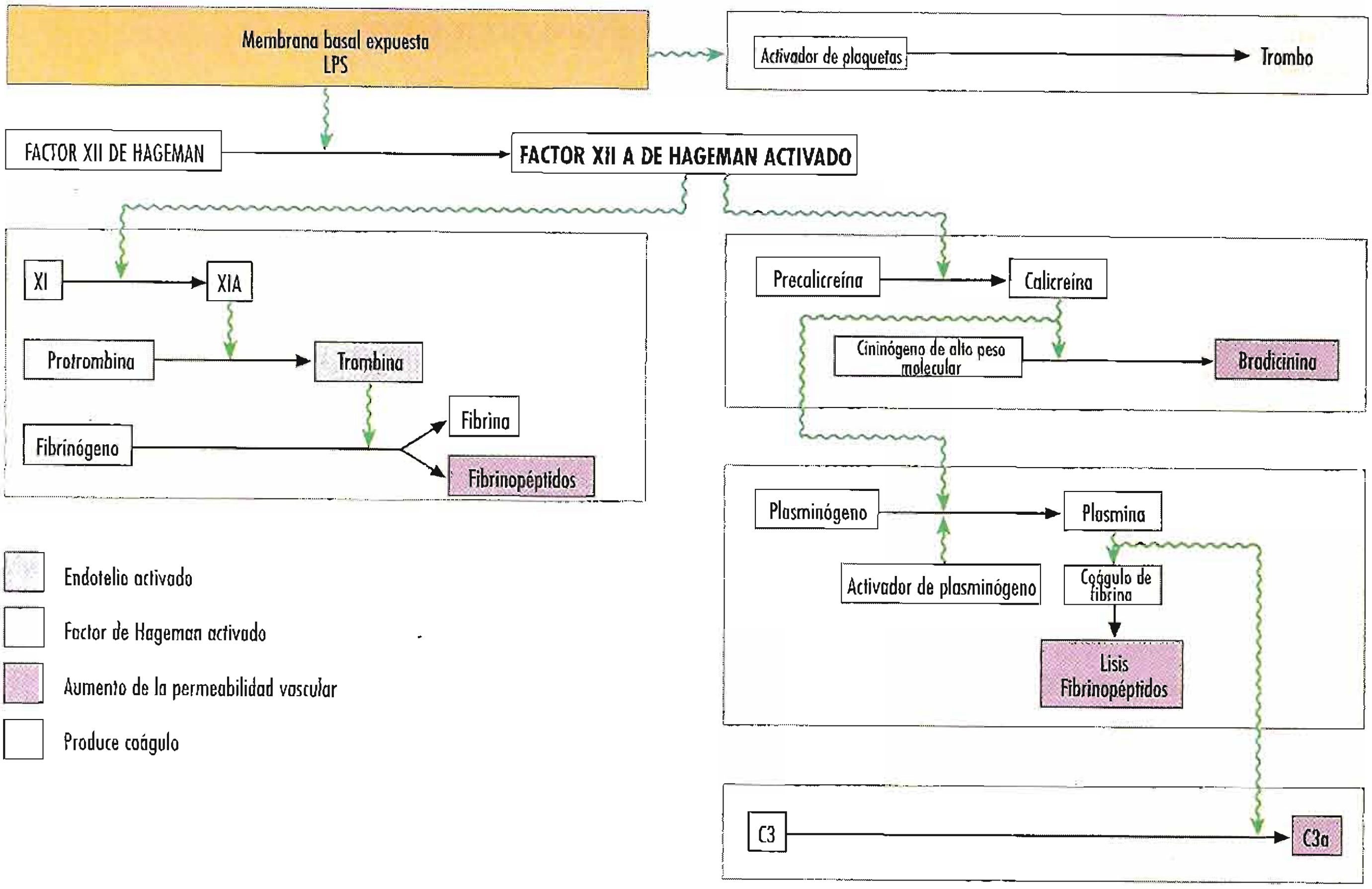

Membrana basal expuesta
LPS
Activador de plaquetas
Trombo
FACTOR XII DE HAGEMAN
FACTOR XII A DE HAGEMAN ACTIVADO
XI
XIA
Protrombina
Trombina
Fibrina
Fibrinógeno
Fibrinopéptidos
Precalicreína
Calicreína
Cininógeno de alto peso molecular
Bradicinina
Plasminógeno
Plasmina
Activador de plasminógeno
Coágulo de fibrina
Lisis
Fibrinopéptidos
C3
C3a
Endotelio activado
Factor de Hageman activado
Aumento de la permeabilidad vascular
Produce coágulo

Fig. 13-4. Acontecimientos iniciados por el endotelio vascular dañado. Nótese que la trombina también puede liberar el factor activador de plaquetas (PAF) que induce la formación del trombo.

Quizás éste es un buen momento para recordar el papel importante de las quimiocinas (véase cuadro 10-3) en la atracción selectiva de numerosos tipos de leucocitos al foco inflamatorio. Las quimiocinas inflamatorias son inducidas en los casos típicos por los productos microbianos, como lipopolisacárido (LPS), y las citocinas proinflamatorias, entre las que se incluyen IL-1, TNF e IFNγ. Como generalización muy amplia, las quimiocinas de la subfamilia CXC, como IL-8, son específicas para los neutrófilos y, en magnitudes variables, para los linfocitos, mientras que las quimiocinas con el motivo CC son quimiotácticas para células T, monocitos y células dendríticas, y variables para natural killer (NK), basófilos y eosinófilos. La eotaxina (CCL11) es quimiotáctica para eosinófilos, y la presencia de concentraciones significativas de este mediador junto con RANTES (en inglés, *r*egulates upon *a*ctivation *n*ormal *T*-cell *e*xpressed and *s*ecreted; expresada y secretada por la célula T normal, regulada con la activación, CCL5) en las superficies de las mucosas podrían ser los responsables del incremento de la población de eosinófilos en esos tejidos. Las diferentes quimiocinas se unen a glucosaminoglucanos de sulfato de heparán y heparina particulares, de modo que, después de la secreción, el gradiente quimiotáctico pueda mantenerse por la adherencia a la matriz extracelular como una forma de andamiaje.

Es claro que todo este funcionamiento sirve para concentrar las defensas inmunes alrededor de los microorganismos invasores. Éstos se recubren con el anticuerpo, C3b y ciertas proteínas de fase aguda y quedan listos para la fagocitosis por los granulocitos y macrófagos; bajo la influencia de mediadores inflamatorios estas células regulan en más C3 y receptores de Ig, incrementan las respuestas fagocíticas y presentan mayor poder de destrucción, lo que contribuye con un mal futuro para los microorganismos.

De hecho, es beneficioso reclutar linfocitos en los sitios de infección y debemos recordar que las células endoteliales en estas áreas expresan VCAM-1 (véase pág. 168), que actúa como un receptor guía para las células T de memoria activadas VLA-4 positivas, mientras que muchas quimiocinas son quimiotácticas para los linfocitos.

Regulación y resolución de la inflamación

Con su prudencia habitual, la evolución estableció mecanismos reguladores para impedir que la inflamación se escape de nuestras manos. En el nivel humoral hay una serie de proteínas del complemento reguladoras: inhibidor C1, proteína de unión C4b, los factores H e I de la proteína de control C3, receptor CR1 del complemento, factor acelerador de degradación (en inglés, *d*ecay *a*ccelerating *f*actor –DAF–), proteína cofactor de membrana (en inglés, *m*embrane *c*ofactor *p*rotein –MCP–) e inmunoconglutinina, y por último las proteínas que bloquean el complejo de ataque a la membrana, el factor de restricción homólogo y CD59 (comentario más extenso en la pág. 349). Sería esperable que algunas de las proteínas de fase aguda derivadas del plasma trasudado actúen como inhibidores de proteasas.

En el nivel celular, la PGE_2, el factor de crecimiento en transformación β (TGFβ) y los glucocorticoides son reguladores poderosos. PGE_2 es una inhibidora potente de la proliferación del linfocito y de la producción de citocina por células T y macrófagos. El TGFβ desactiva los macrófagos mediante la inhibición de la producción del intermediario reactivo del oxígeno y la regulación hacia abajo de la expresión de las moléculas clase II del CMH; también aplaca el entusiasmo citotóxico tanto de los macrófagos como de las células NK activadas por interferón γ (IFNγ). Los glucocorticoides endógenos producidos por el eje hipotalámico-hipofisario-suprarrenal ejercen sus efectos antiinflamatorios tanto mediante la *represión* de varios genes, que incluyen aquellos para las citocinas proinflamatorias y las moléculas de adhesión, como por la *inducción* de inhibidores de inflamación lipocortina-1, inhibidor de proteinasa secretora de leucocito y antagonista del receptor para IL-1. La IL-10 inhibe la presentación del antígeno, la producción de citocina y la destrucción con óxido nítrico (NO) por los macrófagos, esta última inhibición está incrementada en gran medida por la acción sinérgica con IL-4 y TGFβ.

Una vez eliminado el agente inflamatorio, estos procesos reguladores normalizarán el sitio. Cuando por su intensidad y magnitud la inflamación lesiona los tejidos, el TGFβ desempeña un papel importante en la curación posterior de la herida mediante la estimulación de la división de los fibroblastos y el depósito de elementos nuevos de la matriz extracelular.

Inflamación crónica

Si un agente inflamatorio persiste, ya sea por su resistencia a la degradación metabólica o por la incapacidad de un sistema inmune deficiente de eliminar un microorganismo infeccioso, el carácter de la respuesta celular se modifica. El sitio se convierte en dominado por los macrófagos con morfología variable: muchos poseen un aspecto de activados, algunos forman colecciones, por lo que se los denomina células "epitelioides", y otros se fusionan para formar células gigantes. Si interviene una respuesta inmune adaptativa, también puede haber linfocitos con diversos aspectos. Este **granuloma** característico aísla al agente persistente del resto del organismo huésped (véase la sección sobre hipersensibilidad tipo IV en el capítulo 16, pág. 391).

BACTERIAS EXTRACELULARES SUSCEPTIBLES DE SER DESTRUIDAS POR FAGOCITOSIS Y COMPLEMENTO

Estrategias para la supervivencia bacteriana

La variedad y el ingenio de estos mecanismos de escape son muy intrigantes y, como sucede con casi todos los agentes infecciosos, si usted puede pensar en una posible estrategia de evasión, seguro que algún microorganismo ya la utilizó.

Evasión de la fagocitosis

Las paredes celulares de las bacterias son múltiples (fig. 13-5) y en algunos casos poseen una resistencia intrínseca a diversos agentes microbicidas; no obstante, un mecanismo común por el que las formas virulentas escapan de la fagocitosis es la síntesis de una **cápsula** externa, que no se adhiere con facilidad a las células fagocíticas y recubre las moléculas de hidratos de carbono de la superficie bacteriana, que de otro modo podrían ser reconocidas por los receptores del fagocito (fig. 13-6a). Por ejemplo, tan sólo 10 neumococos capsulados podrían matar a un ratón, pero, si se elimina la cápsula por tratamiento con hialuronidasa, se requieren 10.000 bacterias para este trabajo. Muchos patógenos desarrollan cápsulas que impiden el acceso físico de los fagocitos al C3b depositado en la pared celular bacteriana.

Otros microorganismos poseen moléculas activamente **antifagocíticas** sobre la superficie celular y

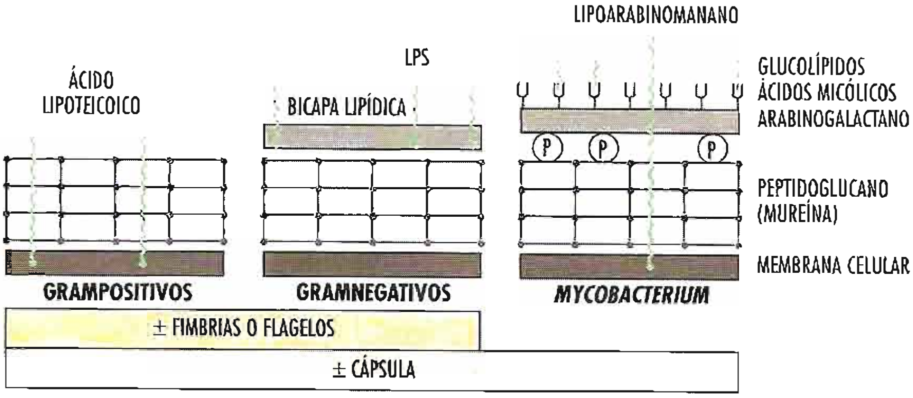


Fig. 13-5. Estructura de las paredes celulares bacterianas. Todos los tipos poseen una membrana celular interna y una pared de peptidoglucano que pueden ser clivadas por lisozima y enzimas lisosómicas. La bicapa lipídica externa de las bacterias gramnegativas, que es susceptible a la acción del complemento o las proteínas catiónicas, a veces contiene lipopolisacárido (LPS; también conocido como endotoxina; compuesto por cadenas laterales de oligosacáridos O-específicas unidas a un cono polisacárido basal, que a su vez está unido a la molécula mitógena lípido A; se conocen 148 variedades del antígeno O de *Escherichia coli*). La pared celular de las micobacterias es muy resistente a la degradación. Cuando están presentes, las cápsulas externas pueden proteger a las bacterias de la fagocitosis.

otros hasta llegan a secretar **exotoxinas,** que realmente envenenan los leucocitos (fig. 13-6b). Aun otra artimaña tortuosa es aprovechar la unión a la superficie de una célula no fagocítica, y de ese modo ganar acceso a un refugio contra las depredaciones del fagocito profesional (fig. 13-6c). Es probable que algunos microorganismos intenten evitar la provocación indebida de las células fagocíticas mediante la adhesión y la *colonización de las superficies mucosas externas* del intestino.

Desafío al sistema complemento

Activación deficiente del complemento. Las células normales de los mamíferos están protegidas de la destrucción del complemento por proteínas reguladoras, como el receptor del complemento CR1, MCP y DAF, que producen la degradación de la C3 convertasa (véase pág. 349 para un comentario más amplio). Los microorganismos carecen de estas proteínas reguladoras, de modo que, incluso en ausencia de anticuerpo, la mayoría de ellos activaría la vía alternativa del C mediante la estabilización de la C3bBb convertasa sobre sus superficies. Sin embargo, las cápsulas bacterianas en general tienden a ser malos activadores de la vía alternativa del complemento, y las presiones selectivas favorecen la síntesis de cápsulas cuyos componentes de superficie no facilitan la unión estable del complejo convertasa (fig. 13-6d).

Aceleración de la degradación del complemento. Los miembros de la familia de reguladores de la activación del complemento (RCA) que disminuyen la actividad de la C3 convertasa incluyen la proteína de unión C4b (C4BP), factor H y proteína 1 tipo factor H (FHL-1). Ciertas moléculas de la superficie bacteriana, en especial las que poseen altos contenidos en ácido siálico, se unen al factor H (fig. 13-6e), que luego actúa como un foco para la degradación del C3b por el factor I serina proteasa (véase pág. 12). Esto se observa, por ejemplo, con *Neisseria gonorrhoeae*. De manera similar, las regiones hipervariables de las proteínas M de ciertas cepas de *Streptococcus pyogenes* (estreptococo grupo A) pueden unirse a FHL-1, mientras que otras cepas regulan en menos la activación del complemento por la interacción con C4BP, esta vez al actuar como un cofactor para la degradación mediada por el factor I del componente C4b de la vía clásica C3 convertasa, $\overline{\text{C4b2a}}$. Hay evidencias de que C4BP también puede inhibir la activación de la vía alternativa. Ciertas cepas de estreptococos del grupo B producen una C5a-asa que puede actuar como un factor de virulencia por clivaje proteolítico y en consecuencia inactivar al C5a (fig. 13-6e).

Desviación del complemento. Algunas especies logran evitar la lisis mediante la desviación del sitio de activación del complemento, ya sea a una proteína señuelo secretada o a una posición en la superficie bacteriana distante de la membrana celular (fig. 13-6f).

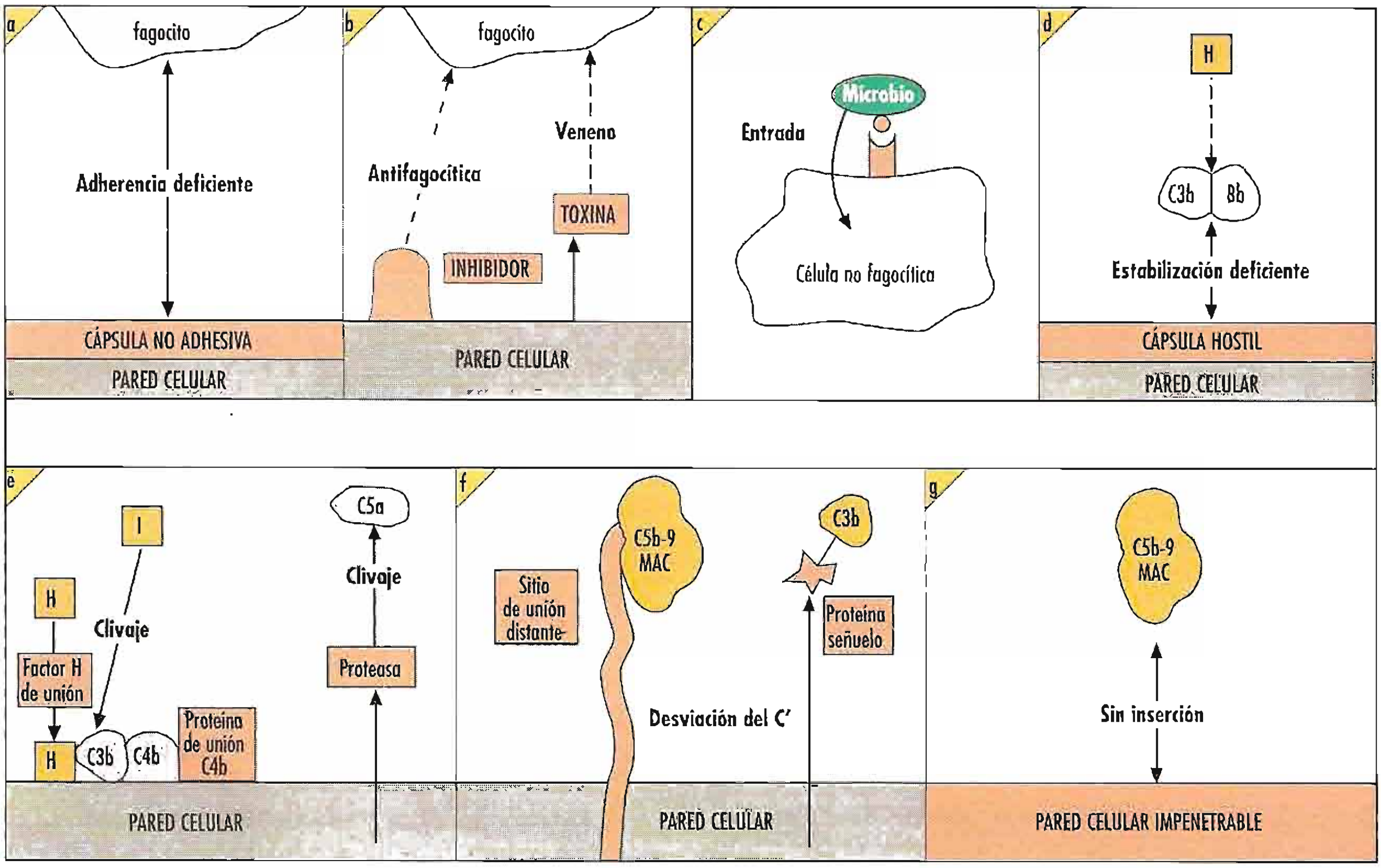

a
fagocito
Adherencia deficiente
CÁPSULA NO ADHESIVA
PARED CELULAR
b
fagocito
Antifagocítica
Veneno
TOXINA
INHIBIDOR
PARED CELULAR
c
Microbio
Entrada
Célula no fagocítica
d
H
C3b
Bb
Estabilización deficiente
CÁPSULA HOSTIL
PARED CELULAR
e
I
H
Clivaje
Factor H de unión
H
C3b
C4b
Proteína de unión C4b
C5a
Clivaje
Proteasa
PARED CELULAR
f
Sitio de unión distante
C5b-9 MAC
C3b
Proteína señuelo
Desviación del C'
PARED CELULAR
g
C5b-9 MAC
Sin inserción
PARED CELULAR IMPENETRABLE

Fig. 13-6. Estrategias de evasión de las bacterias extracelulares. **a)** La cápsula brinda una adherencia deficiente al fagocito. **b)** La exotoxina envenena al fagocito. **c)** El microbio se adhiere al componente de superficie para entrar en la célula no fagocítica. **d)** La cápsula proporciona una superficie deficiente para la estabilización de la vía alternativa de la convertasa. **e)** Aceleración de la degradación del complemento por subproductos microbianos. **f)** Los efectores del complemento son desviados de la pared celular microbiana. **g)** La pared celular impide la entrada del complejo de ataque de la membrana del complemento (MAC).

Resistencia a la inserción de los componentes terminales del complemento. Los microorganismos grampositivos (véase fig. 13-5) desarrollaron capas gruesas de peptidoglucano que previenen la inserción del complejo de ataque a la membrana lítica C5b-9 en el interior de la membrana celular bacteriana (fig. 13-6g). Muchas cápsulas hacen lo mismo.

Interferencia con los acontecimientos que se producen en el interior del macrófago

Las bacterias entéricas gramnegativas en el intestino desarrollaron variadas maneras de influir en la actividad del macrófago, como inducción de la apoptosis, incremento de la producción de IL-1, impedimento de la fusión del fagolisosoma y afección del citoesqueleto de actina (fig. 13-7).

Variación antigénica

Si bien la estrategia de la variación individual de antígenos ante una respuesta determinada de anticuerpos del huésped suele asociarse con virus y parásitos, sólo hay unos pocos ejemplos bien definidos en las bacterias. Entre ellos se incluyen la variación de las lipoproteínas de superficie en la enfermedad de Lyme producida por la espiroqueta *Borrelia burgdorferi*, alteraciones en las enzimas involucradas en la síntesis de estructuras de la superficie en *Campylobacter jejuni* y la variación antigénica de los pili en *Neisseria meningitidis*. Además, pueden originarse cepas nuevas, como con *E. coli* O157: H7 amenazante para la vida, que puede causar el síndrome urémico hemolítico y parece haber surgido hace alrededor de 50 años por la incorporación de genes de la toxina de *Shigella* en el genoma de *E. coli* O55.

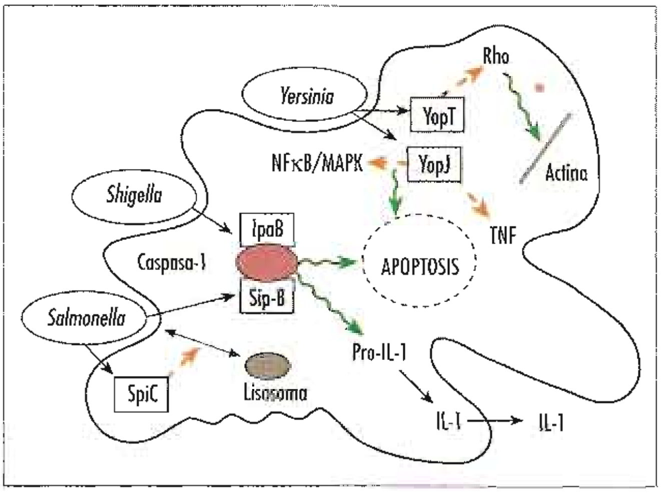


Fig. 13-7. Evasión de las defensas del macrófago por las bacterias entéricas. Las proteínas IpaB y SipB secretadas por *Shigella* y *Salmonella*, respectivamente, pueden activar la caspasa 1 y por eso contraponer una secuencia de episodios que llevarán a la muerte del macrófago por apoptosis. La caspasa 1 activada también estimula una proteasa que escinde la pro-IL-1, por lo que el macrófago libera grandes cantidades de la citosina proinflamatoria IL-1. De manera paradójica, esto puede ser ventajoso para las bacterias debido a la migración posterior de los neutrófilos a la luz intestinal, que provoca un aumento de la laxitud de las uniones intercelulares entre los enterocitos, lo que permite la invasión celular de la superficie basolateral por los microorganismos desde la luz. La proteína SpiC de la *Salmonella* inhibe el tránsito de las vesículas celulares y por consiguiente puede prevenir la fusión de los lisosomas con las vesículas fagocíticas. *Yersinia* produce varias moléculas Yop (en inglés, *Yersinia o*uter *p*roteins; proteínas externas de *Yersinia)* capaces de interferir con el funcionamiento normal del fagocito. Por ejemplo, YopJ inhibe la producción de TNF y regula en menos NFκB y MAP cinasas, lo que facilita la apoptosis por inhibición de las vías antiapoptósicas. YopT impide la fagocitosis por la modificación de la GTPasa Rho involucrada en la regulación del citoesqueleto de actina. (Basado en Donnenberg M.S. [2000] *Nature* 406,768.)

El contraataque del huésped

Los mecanismos de defensa aprovechan la especificidad y la variabilidad de la molécula del anticuerpo. Los anticuerpos pueden vencer estos tortuosos esfuerzos por la neutralización de las moléculas antifagocíticas y mediante su unión a la superficie de los microorganismos determinar el sitio para la fijación del complemento, de modo de "opsonizar" los microorganismos para que los neutrófilos y macrófagos los ingieran o prepararlos para el complejo de ataque a la membrana terminal (hito 13-1). Sin embargo, la producción de anticuerpos por las células B por lo común requiere la colaboración de las células T, y éstas necesitan ser activadas por las células presentadoras de antígenos.

Como ya se comentó en el capítulo 1, los PAMP (en inglés, *p*athogen-*a*ssociates *m*olecular *p*atterns, patrones moleculares asociados a patógenos), como la endotoxina lipopolisacárido (LPS) de las bacterias gramnegativas, el peptidoglucano, los ácidos lipoteicoicos, los mananos, el DNA bacteriano, el RNA de doble cadena y los glucanos, son todas las moléculas ampliamente expresadas por los patógenos microbianos pero que no están presentes en los tejidos del huésped. Así, estas moléculas sirven como un servicio de alerta para el sistema inmune, que detecta su presencia mediante la utilización de varios receptores para el reconocimiento de patrones (en inglés, *p*attern *r*ecognition *r*eceptors –PRRs–) expresados en la superficie de las células presentadoras de antígenos. Estos receptores incluyen el de manosa (CD206), que facilita la fagocitosis de los microorganismos por los macrófagos y el receptor del "basurero" (CD204) que media la depu-

Hito 13-1. Efectos protectores de los anticuerpos

La investigación pionera que condujo al reconocimiento de la protección antibacteriana ofrecida por los anticuerpos se concentró en los últimos años del siglo XIX. Un buen lugar para comenzar la historia es el descubrimiento realizado por Roux y Yersin en 1888, en el aún famoso Instituto Pasteur de París, en el que pudo aislarse la exotoxina del bacilo diftérico a partir de un filtrado libre de bacterias del medio utilizado para el cultivo del microorganismo. Von Behring y Kitasato en el Instituto de Koch en Berlín en 1890 continuaron para demostrar entonces que los animales podían desarrollar una inmunidad contra estas toxinas, que se debía a la generación de antídotos neutralizantes específicos, denominados en forma genérica **anticuerpos**. Con posterioridad, realizaron la transferencia pasiva de la inmunidad a otro animal con suero que contenía la antitoxina. Los albores de una era de seroterapia comenzó en 1894 con el tratamiento que practicó Roux en pacientes con difteria mediante la inyección de suero equino inmune.

En los años siguientes la comunidad inmunológica fue sacudida por una especie de terremoto intelectual en el que participaban primero los defensores del punto de vista de que toda la inmunidad bacteriana se debía a antitoxinas, y segundo, la posición rígida de Metchnikoff quien sostenía que la fagocitosis era el principal, si no el único, baluarte real de la defensa contra la infección. La situación fue resuelta por nuestro

Fig. H13-1.1. Emil von de Behring (1854-1917).

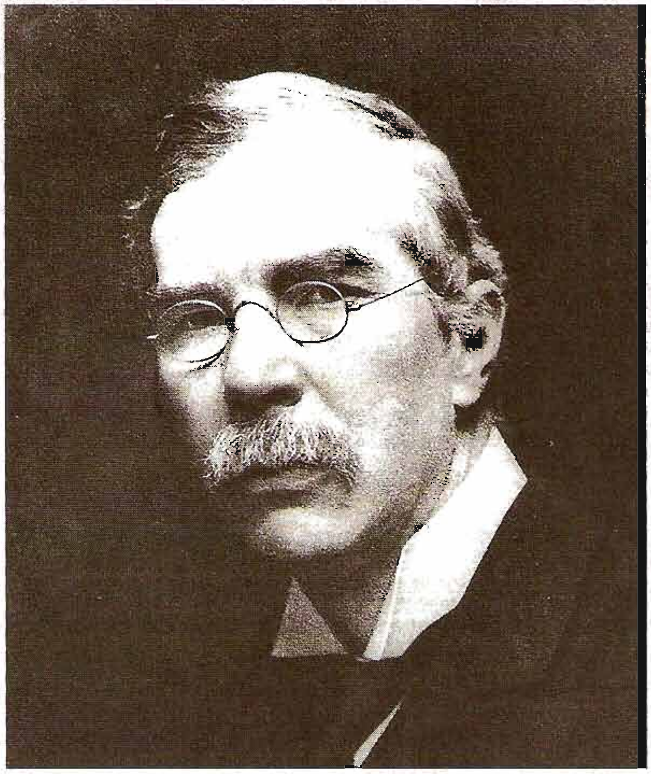


Fig. H13-1.3. Sir Almroth Wright. (Foto amablemente proporcionada por The Wellcome Centre Medical Photographic Library, Londres.)

brillante caballero Sir Almroth Wright en Londres en 1903, quien propuso que la acción principal del aumento de anticuerpos producidos después de la infección era reforzar la destrucción llevada a cabo por los fagocitos. Este autor denominó a los anticuerpos **opsoninas** (del griego *opson*, adobo o condimento), porque preparaban las bacterias como un alimento para las células fagocíticas y comprobó con amplitud sus presunciones mediante la demostración de que los anticuerpos aumentaban de manera espectacular la fagocitosis de las bacterias in vitro, con lo que relacionaba con claridad la inmunidad *innata* con la *adaptativa*.

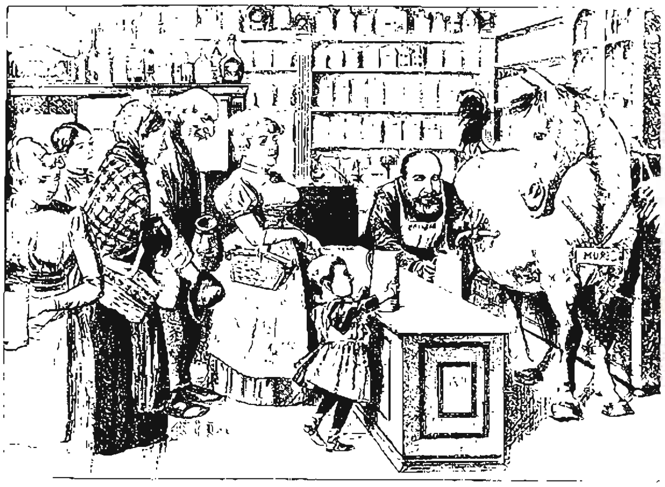


Fig. H13-1.2. Von Behring cuando extrae suero de un grifo. Caricatura de Lustigen Blättern, 1894. (Leyenda: "¡Suero directo del caballo! Recién extraído".) (Foto amablemente proporcionada por The Wellcome Centre Medical Photographic Library, Londres.)

Era una característica de esos tiempos que las controversias principales se expresaran en folletos, libros y obras teatrales, y sorprende que Bernard Shaw haya entrado en la reyerta para defender a Almroth Wright en su obra *The Doctor's Dilemma*. En el prólogo brindó una descripción evocadora de la función de las opsoninas: "Sir Almroth Wright, siguiendo uno de los romances biológicos más sugestivos de Metchnikoff, descubrió que los corpúsculos blancos o fagocitos que atacan y devoran para nosotros los gérmenes de la enfermedad sólo hacen su trabajo cuando untamos los gérmenes de la enfermedad de modo apetitoso para ellos con una salsa natural que Sir Almroth denominó opsoninas sólo tres..." Pueden encontrarse relatos más amplios y de lectura agradable sobre la inmunología de fines del siglo XIX en Humphrey JH y White RG [1970] *Immunology for Students of Medicine*, 3ª ed., cap. 1, Blackwell Scientific Publications, Oxford; Craps L [1993] *The Birth of Immunology*, Sandoz, Basilea, y Silverstein AM [1989] *A History of Immunology*,. Academic Press, San Diego.

ración de las bacterias de la circulación. La unión del LPS al CD14 PRR en monocitos, macrófagos, células dendríticas y células B conduce al reclutamiento de la molécula del receptor 4 tipo herramienta (en inglés *t*oll-*l*ike *r*eceptor *4* –TLR4–) que puede mediar en las señales de activación de la expresión de una amplia variedad de genes inflamatorios, como aquellos para IL-1, IL-6, IL-12 y TNF, y para B7.1 (CD80) y moléculas coestimuladoras B7.2 (CD86). Un receptor relacionado, TLR2, reconoce los componentes de la pared celular de las bacterias grampositivas.

Neutralización de toxinas

Los anticuerpos circulantes neutralizan las moléculas antifagocíticas solubles y otras exotoxinas (p. ej., fosfolipasa C de *Clostridium welchii*) liberadas por las bacterias. La combinación cerca del sitio biológicamente activo de la toxina bloquearía la reacción estereoquímica con el sustrato, en particular si se trata de macromoléculas; la combinación distante del sitio activo puede causar también la inhibición por medio de cambios conformacionales alostéricos. En su complejo con el anticuerpo, la toxina puede ser incapaz de difundirse con rapidez a distancia y será susceptible a la fagocitosis, sobre todo si el complejo puede aumentar de tamaño por la acción de los autoanticuerpos naturales que pueden formar complejos con la IgG (factores antiglobulina) y C3b (inmunoconglutinina, no confundir con la *conglutinina* bovina, una molécula que no es anticuerpo y que se combina con la porción hidrato de carbono del C3b).

Opsonización de bacterias

Independiente del anticuerpo. Las diferencias entre las estructuras de los hidratos de carbono en las bacterias y las propias son aprovechadas por las **colectinas**, una serie de moléculas con ultraestructura similar al C1q y que posee dominios de lectina en el C-terminal. Entre ellas se incluyen la proteína de unión a la manosa (en inglés, *m*annose-*b*inding *p*rotein –MBP–; también denominada lectina de unión a la manosa –MBL–), las proteínas SP-A y SP-D del surfactante pulmonar y, en el ganado, conglutinina, que todas en conjunto reconocen los ligandos de hidratos de carbono. La proteína de unión a la manosa puede unirse a la manosa terminal en la superficie bacteriana y luego interactuar con la serina proteasa asociada al MBP (en inglés, *MBP*-*a*ssociated *s*erine *p*rotease –MASP–) que es homóloga en la estructura a C1r y C1s. Así, la interacción es muy similar a la de C1q con C1r y C1s (véase pág. 24) y, de esta manera, conduce a la activación independiente del anticuerpo de la vía clásica. SP-A, SP-D y conglutinina pueden actuar como opsoninas (véase hito 13-1) y mediar en la fagocitosis en virtud de su unión al receptor C1q.

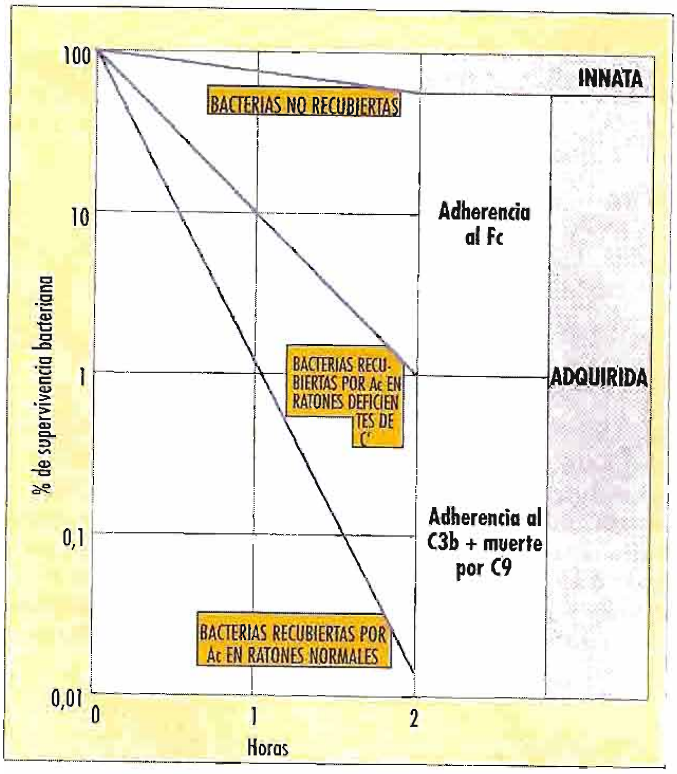


Fig. 13-8. Efecto de los anticuerpos opsonizantes y del complemento en la velocidad de la depuración de las bacterias virulentas de la sangre. Las bacterias no recubiertas son fagocitadas con bastante lentitud (*inmunidad innata*) pero, cuando están recubiertas por anticuerpos, la adherencia a los fagocitos aumenta muchas veces (*inmunidad adquirida*). La adherencia es menos eficaz en los animales con una depleción transitoria del complemento. Ésta es una situación hipotética pero real; no se consideró la proliferación natural de las bacterias.

Aumento por el anticuerpo. Las bacterias capsuladas que resisten la fagocitosis se tornan muy atractivas para neutrófilos y macrófagos cuando están recubiertas por anticuerpos y la velocidad de depuración del torrente sanguíneo incrementa de manera marcada (fig. 13-8). La eliminación menos eficaz de las bacterias recubiertas en los animales hipocomplementémicos destaca la sinergia entre el anticuerpo y el complemento para la opsonización, que está mediada por los receptores específicos de alta afinidad para IgG y C3b sobre la superficie de los fagocitos (fig. 13-9). Es claramente ventajoso que las subclases de inmunoglobulinas que se unen con firmeza a estos receptores Fc (p. ej., IgG1 e IgG3 en los

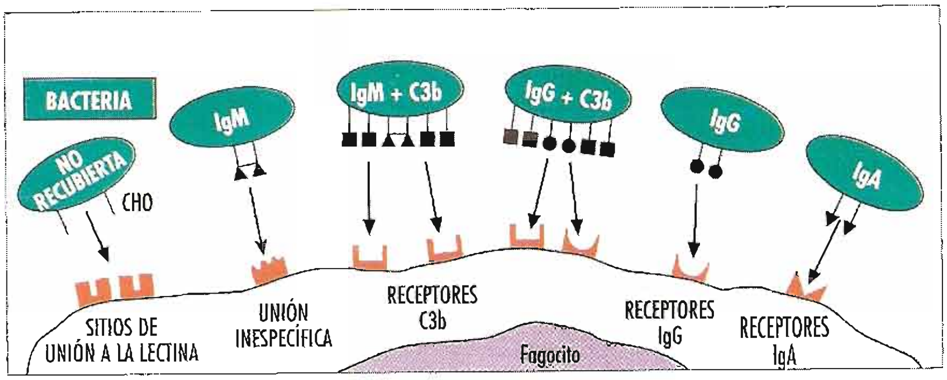


Fig. 13-9. **Las cubiertas de inmunoglobulina y complemento aumentan en gran medida la adherencia de las bacterias (y otros antígenos) a macrófagos y neutrófilos.** Las bacterias no recubiertas se adhieren a los sitios tipo lectinas, como el receptor de unión manosa. No hay sitios de unión específicos para la IgM (▲▲), pero existen receptores de alta afinidad para IgG (Fc) (●) e iC3b (■) en la superficie del macrófago que incrementan de manera considerable la fuerza de unión. El efecto aumentador del complemento se debe a que dos moléculas de IgG adyacentes pueden fijar muchas moléculas de C3b, lo que en consecuencia incrementa la cantidad de ligaduras al macrófago (véase "efecto bonificación de la multivalencia"; pág. 98). Aunque la IgM no se une de manera específica al macrófago, promueve la adherencia a través de la fijación del complemento. También sedefinieron receptores específicos para los dominios Fcα de la IgA.

seres humanos) también fijan bien el complemento, y se aprecia que el heterodímero de C3b unido a la IgG es una opsonina muy eficaz debido a que ocupa dos receptores de manera simultánea. Los complejos que contienen C3b y C4b pueden mostrar adherencia inmune a los receptores del complemento CR1 en los glóbulos rojos para proporcionar agregados que se transportan al hígado y al bazo para la fagocitosis.

En esta etapa puede ser pertinente realizar algún comentario sobre los **receptores del complemento.** El receptor CR1 (CD35) para C3b también está presente en neutrófilos, eosinófilos, monocitos, células B y células dendríticas foliculares del ganglio linfático. Junto con el receptor CR3 (CD11b/CD18), tiene la responsabilidad principal de eliminar los complejos que contienen C3. El gen *CR1* se une en un cúmulo con la proteína de unión al C4b y el factor H, que en conjunto ejercen una función reguladora mediante la unión al C3b o al C4b para desmontar las convertasas C3/C5, y actuar como cofactores para la inactivación proteolítica de C3b y C4b por el factor 1.

Los receptores CR2 (CD21) para iC3b, C3dg y C3d están presentes en las células B y células dendríticas foliculares y transducen señales accesorias para la activación de las células B, en especial en los centros germinativos (véase pág. 213). Su afinidad para el virus de Epstein-Barr (EBV) proporciona el modo de entrada del virus a la célula B.

Los receptores CR3 (CD11b/CD18 en neutrófilos, eosinófilos, monocitos y células NK) se unen a iC3b, C3dg y C3d. Se relacionan con LFA-1 y CR4 (CD11c/CD18, se unen a iC3b y C3dg) en que son miembros de la subfamilia de las β_2 integrinas (véase cuadro 8-2). CR5 se encuentra en neutrófilos y plaquetas, y se une a C3d y C3dg. Se describieron varios otros receptores para el complemento, entre los que se incluyen algunos con especificidad para C1q, C3a y C4a, y la molécula CD88 con especificidad para C5a.

Algunos efectos adicionales del complemento

Algunas cepas de bacterias gramnegativas que poseen una pared externa lipoproteica, que recuerda las membranas de las superficies de los mamíferos en lo que se refiere a la estructura, son susceptibles a la acción bactericida del suero fresco que contiene anticuerpos. El anticuerpo inicia el desarrollo de una lesión mediada por completo que permitiría el acceso de la lisozima en la pared interna de peptidoglucano de la bacteria para causar por último la muerte celular. La activación del complemento mediante la unión del anticuerpo y la bacteria también generará las anafilotoxinas C3a y C5a que conducen a trasudación extensa de componentes séricos, que incluyen más anticuerpos, y a la atracción quimiotáctica de los neutrófilos para ayudar en la fagocitosis, como se describió con anterioridad en el caso de la inflamación aguda (véanse figs. 2-18 y 13-3).

El sistema inmune secretor protege las superficies de las mucosas externas

Ya hicimos hincapié en la naturaleza crítica de las barreras de las mucosas, en particular en el intesti-

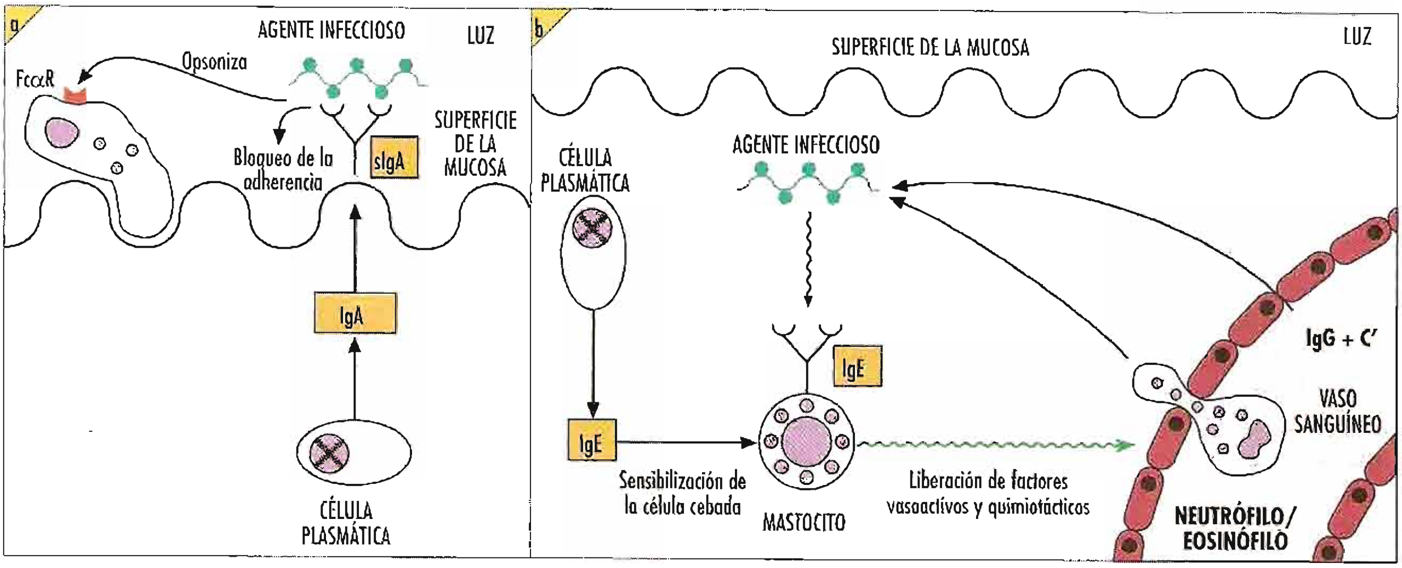


Fig. 13-10. Defensa de las superficies mucosas. a) La IgA opsoniza los microorganismos e impide la adherencia a la mucosa. b) La IgE recluta agentes de la respuesta inmune al disparar la liberación de mediadores provenientes de los mastocitos.

no, donde hay una interfase que puede ser hostil con las hordas microbianas. Con una superficie de alrededor de 400 m^2, cancha de tenis más o cancha de tenis menos, el epitelio de la mucosa adulta representa la puerta de entrada más frecuente para agentes infecciosos, alergenos y carcinógenos comunes. Es muy obvia la necesidad de una inmunidad de las mucosas bien ordenada y muy eficaz. El conocimiento de esta necesidad era evidente incluso en tiempos pasados. Per Brandtzaeg relata un entretenido ejemplo histórico.

En los tiempos antiguos, los reyes siempre estaban angustiados debido a la posibilidad de ser envenenados por sus enemigos. (Se escucha decir que el hábito de hacer chocar las copas para brindar tiene su origen en la costumbre de verter algo de vino en la copa de la persona siguiente y así sucesivamente hasta que la operación haya dado la vuelta completa.) De cualquier modo, Mithridates VI Eupator, Rey de Pontus (en la actualidad parte de Turquía) en el siglo I a. C., estaba tan temeroso de ser envenenado que intentó aumentar sus defensas intestinales mediante la bebida de sangre de patos que habían sido alimentados con cizañas venenosas. Después de la derrota por los Romanos y la rebelión en su ejército, trató de envenenarse sin éxito, testimonio de la efectividad de la inmunización oral. Como espantoso control negativo, sus dos hijas no tuvieron dificultad de suicidarse con el mismo veneno, después de lo cual el rey desesperado tuvo que solicitar a su guardia personal que lo mate con un arma más convencional.

Las superficies de la mucosa intestinal se defienden del antígeno por mecanismos tanto específicos como inespecíficos. Entre los inespecíficos son de especial valor los proporcionados por los péptidos antimicrobianos. Éstos son producidos no sólo por neutrófilos y macrófagos sino también por el epitelio de la mucosa, donde actúan como una barrera defensiva antibacteriana primaria. Como se describió en el capítulo 1, el grupo de péptidos antimicrobianos denominados defensinas produce la lisis de las bacterias mediante la ruptura de sus membranas de superficie. La inmunidad específica la proporciona la IgA secretora y la IgM, con un predominio de la IgA1 en las áreas superiores y de la IgA2 en el intestino grueso. La mayor parte del resto de las mucosas también está protegida de manera predominante por IgA con una excepción sorprendente de los tejidos del tracto reproductor masculino y femenino, donde el isotipo de anticuerpo dominante es la IgG. La envergadura de la tarea se destaca al indicar que el 80% de las células B productoras de Ig está presente en la mucosa secretora y en las glándulas exocrinas. Los anticuerpos IgA ofrecen protección en líquidos corporales externos, lágrimas, saliva, secreciones nasales y las que bañan las superficies del intestino y los pulmones porque recubren bacterias y virus, e impiden su adherencia a las células epiteliales de las membranas mucosas, que son esenciales para la infección viral y la colonización bacteriana. Las moléculas de IgA secretora por sí solas poseen una capacidad muy escasa de adhesividad innata para las células epiteliales, pero los receptores Fc de alta afinidad para esta clase de Ig están presentes en macrófagos y neutrófilos, y pueden mediar en la fagocitosis (fig. 13-10a).

Si un agente infeccioso vence la barrera de IgA, se encuentra con la próxima línea defensiva del sistema secretor (véase pág. 171) que está tripulada por IgE. Hay un paralelismo evidente entre las maneras en que las anafilotoxinas derivadas del complemento y la IgE utilizan los mastocitos para producir una amplificación local de las defensas inmunes. Merece la pena destacar que la mayor parte de la IgE sérica se origina a partir de las células plasmáticas de las mucosas y en los ganglios linfáticos que las drenan. Aunque presente en baja concentración, la IgE está unida con gran firmeza a los receptores Fc de los mastocitos (véase pág. 61) y se pone en contacto con el antígeno, lo que conduce a la liberación de mediadores que reclutan con eficacia agentes de la respuesta inmune y generan una reacción inflamatoria aguda local. Así, la histamina, que aumenta la permeabilidad vascular, causa la trasudación de IgG y complemento en el área, mientras que los factores quimiotácticos para neutrófilos y eosinófilos atraen las células efectoras necesarias para eliminar el microorganismo infeccioso recubierto con IgG específica y C3b (fig. 13-10b). La ocupación de los receptores Fcγ y C3b en los macrófagos locales por estos complejos conducirá a la secreción de factores que refuerzan más esta permeabilidad vascular y los acontecimientos quimiotácticos. En términos generales, uno diría que la exclusión inmune en el intestino no es inflamatoria, pero la eliminación inmune de los microorganismos que penetran la mucosa es proinflamatoria.

Cuando el microorganismo opsonizado es demasiado grande para ser fagocitado, los fagocitos pueden matarlo por un mecanismo extracelular después de la adherencia por sus receptores Fcγ. Este fenómeno, denominado citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo (CCDA), se comentó antes (véase pág. 34), y hay evidencias de su participación en las infecciones parasitarias (véase pág. 307).

Los tejidos mucosos contienen una variedad de especies de linfocitos T, pero su papel y el de las células epiteliales de las mucosas, además de la función de colaboración (helper) para la producción de anticuerpos locales, es de menos relevancia para la defensa contra las bacterias extracelulares.

Algunas infecciones bacterianas específicas

Primero veamos cómo se aplican estas consideraciones a la defensa contra la infección por microorganismos comunes, como estreptococos y estafilococos. Los **estreptococos** β hemolíticos fueron clasificados por Lancefield según su antígeno hidrato de carbono, y los más importantes para la enfermedad humana son los que pertenecen al grupo A. *Streptococcus pyogenes* planteó una amenaza impotante en la salud mundial; en 1981, más de seis millones de niños padecieron fiebre reumática asociada con este microorganismo sólo en India y en los Estados Unidos se registró el resurgimiento de una cepa muy virulenta que causa fiebre reumática y síndrome de shock tóxico.

El factor de virulencia más importante es la proteína M de superficie (variantes de las cuales forman la base de la tipificación de Griffith). Esta proteína es un aceptor para el factor H que facilita la ruptura del C3b y se une al fibrinógeno y sus fracciones que cubren los sitios que pueden actuar como activadores del complemento (fig. 13-11). En consecuencia, inhibe la opsonización, y la protección brindada por los anticuerpos contra el componente M es atribuible al aumento llamativo en la fagocitosis que ellos inducen. La capacidad del estreptococo grupo A para desencadenar autoanticuerpos que reaccionan en forma cruzada con la miosina cardíaca se considera que participa en la enfermedad autoinmune posestreptocócica. Los títulos elevados de anticuerpos contra la exotoxina estreptolisina O (ASO), que daña las membranas, son indicadores de infección estreptocócica reciente. Las exotoxinas pirógenas estreptocócicas SPE A, B y C son superantígenos asociados con la escarlatina y el síndrome de shock tóxico. Las toxinas son neutralizadas por anticuerpos, y la reacción intradérmica eritematosa con la inoculación de la toxina (reacción de Dick) sólo se observa en individuos carentes de ellos. Los anticuerpos también pueden neutralizar las enzimas bacterianas tipo hialuronidasa, que actúan para diseminar la infección.

Streptococcus mutans es una causa importante de endocarditis y caries dentales. El microorganismo posee una enzima constitutiva, la glucosiltransferasa, capaz de convertir la sacarosa a dextrán, utilizado para la adhesión a la superficie del diente. La transferencia pasiva de anticuerpos IgG, pero no IgA o IgM, contra *S. mutans* en monos confirió protección contra las caries. Se piensa que el anticuerpo IgG y el complemento en el líquido crevicular gingival que baña el diente opsoniza las bacterias para facilitar la fagocitosis y la destrucción por neutrófilos. Es curioso que un solo tratamiento con un anticuerpo monoclonal contra *S. mutans* mantuvo los dientes libres del microorganismo durante 1 año, quizá debido a un cambio en la ecología bacteriana, con el lugar dejado vacante por *S. mutans*

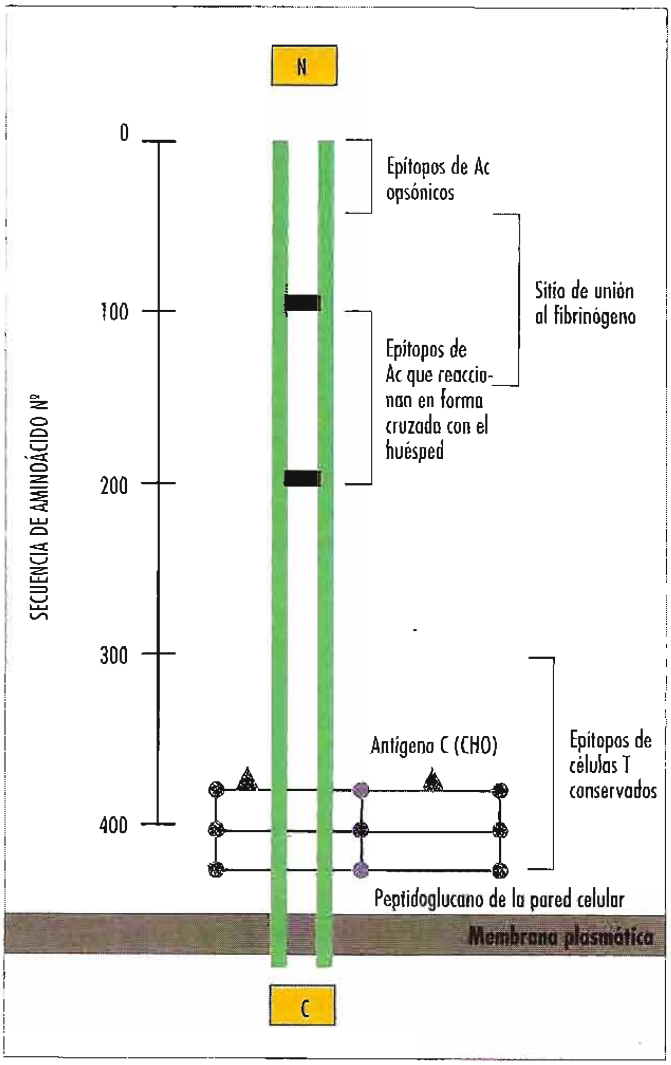

N
0
100
200
300
400
SECUENCIA DE AMINOÁCIDO Nº
Epítopos de Ac opsónicos
Sitio de unión al fibrinógeno
Epítopos de Ac que reaccionan en forma cruzada con el huésped
Antígeno C (CHO)
Epítopos de células T conservados
Peptidoglucano de la pared celular
Membrana plasmática
C

Fig. 13-11. Proteína M estreptocócica de ***S. pyogenes.*** Los dímeros muy enrollados tienen alrededor de 50 nm de longitud. (Basado en Robinson J.H. & Kehoe M.A. [1992] *Immunology Today* 13,362.)

reemplazado por otro microorganismo de la flora oral.

Las formas virulentas de **estafilococos**, de los que *Staphylococcus aureus* es quizás el más común, resisten la fagocitosis. Esto puede deberse en parte a la formación de la cápsula in vivo y en parte a la elaboración de factores como una enzima coagulasa que podría proteger la bacteria mediante una barrera de fibrina. Se sugirió que la capacidad de la proteína A, un componente de la pared celular, para combinarse con la porción Fc de la IgG (distinta de la subclase IgG3) es responsable de la inhibición de la fagocitosis de las cepas virulentas, pero el complejo IgG-proteína A fija el complemento y un estudio demostró que la proteína A en realidad aumenta la fagocitosis mediada por complemento. Debemos volver a un juicio abierto en este problema. Parece aceptado que *S. aureus* es fagocitado con facilidad en presencia de cantidades *adecuadas* de anticuerpo, pero una proporción pequeña de bacterias ingeridas sobrevive y son microorganismos difíciles de eliminar por completo. En los casos en que la infección no se controla de manera adecuada, pueden producirse lesiones severas en el huésped inmunizado como consecuencia de reacciones de hipersensibilidad retardada tipo IV. Así, se encontró que los estafilococos no resultaban virulentos cuando se inoculaban en ratones inmunizados de manera pasiva con anticuerpos, pero causaban daño tisular extenso en animales que con anterioridad habían recibido células T sensibilizadas.

Otros ejemplos en los que se requieren anticuerpos para vencer las propiedades inherentes antifagocíticas de las **cápsulas bacterianas** se observan en la inmunidad contra la infección por neumococos, meningococos y *Haemophilus influenzae. Bacillus anthracis* posee una cápsula antifagocítica compuesta por un γ-polipéptido del ácido D-glutámico pero, aunque los anticuerpos anticapsulares estimulan con eficacia la captación por los neutrófilos, la exotoxina es tan potente que las vacunas son inadecuadas, a menos que también estimulen la inmunidad antitoxina. Además de producir estas exotoxinas letales, *Pseudomonas aeruginosa* elabora una elastasa que inactiva C3a y C5a; como resultado, sólo se producen mínimas respuestas inflamatorias en ausencia de anticuerpos neutralizantes.

La táctica de **desviar la activación del complemento** hacia sitios insensibles se observa bastante bien con diferentes cepas de microorganismos gramnegativos, como *Salmonella* y *Escherichia coli*, que varían en la cantidad de cadenas laterales de oligosacáridos específicos O adheridos al núcleo (core) polisacárido ligado al lípido A de la endotoxina (véase fig. 13-5). Las variantes con largas cadenas laterales son relativamente insensibles a la destrucción por el suero a través de la vía alternativa del complemento (véase pág. 12); a medida que la cadena lateral se torna más y más corta, aumenta la sensibilidad al suero. Aunque todas las variantes activan la vía alternativa, sólo las que presentan cadenas laterales cortas o carentes de ellas permiten que se inserte el complejo de ataque de membrana citotóxico cerca de la bicapa lipídica externa (fig. 13-6f). Por otro lado, los anticuerpos concentran el complejo en un sitio más vulnerable.

La destrucción de los gonococos por el suero que contiene anticuerpos depende de la formación de complejo de ataque a la membrana e individuos ocasionales que carecen de C8 o C9 son susceptibles a la infección por *Neisseria. N. gonorrhoeae* (go-

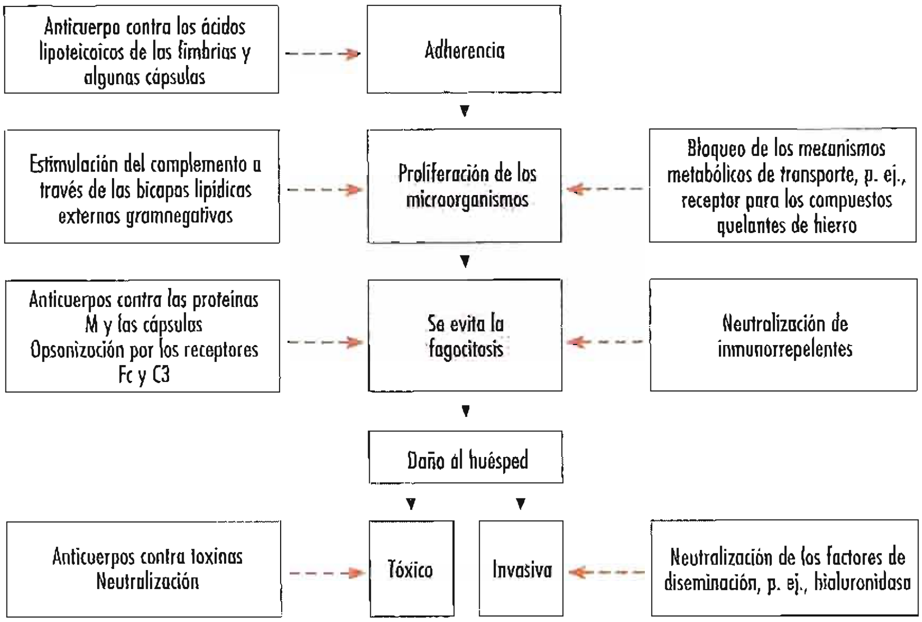

Anticuerpo contra los ácidos lipoteicoicos de las fimbrias y algunas cápsulas
Adherencia
Estimulación del complemento a través de las bicapas lipídicas externas gramnegativas
Proliferación de los microorganismos
Bloqueo de los mecanismos metabólicos de transporte, p. ej., receptor para los compuestos quelantes de hierro
Anticuerpos contra las proteínas M y las cápsulas
Opsonización por los receptores Fc y C3
Se evita la fagocitosis
Neutralización de inmunorrepelentes
Daño al huésped
Anticuerpos contra toxinas
Neutralización
Tóxico
Invasiva
Neutralización de los factores de diseminación, p. ej., hialuronidasa

Fig. 13-12. Defensas de anticuerpos contra la invasión bacteriana.

nococo) se une de manera específica a las proteínas del complemento e impide su inserción en las membranas externas, pero los anticuerpos, como un "Mr Fixit" ("arreglatodo") ubicuo, corrigen esta situación, al menos en lo que respecta al huésped. Con respecto al proceso infeccioso en sí, la IgA producida en el tracto genital como respuesta a estos microorganismos inhibe la adherencia de las bacterias, por medio de sus pili, a las células de la mucosa, pero parece incapaz de brindar una protección adecuada contra la reinfección. Esto parece deberse a un mecanismo de variación antigénica muy eficaz que altera la secuencia de la pilina expresada por conversión génica. La proteína P o B de la membrana externa inhibe la actividad microbicida del fagocito e induce la apoptosis en las células blanco. La falla en el logro de una buena protección también podría ser reflejo de la capacidad del gonococo para producir una proteasa que cliva una secuencia con alto contenido en prolina en la región de la bisagra de la IgA1 (pero no de la IgA2), aunque en la mayoría de los individuos la prsencia de anticuerpos neutralizantes contra esta proteasa puede interferir con su actividad proteolítica. Los meningococos, que con frecuencia infectan la nasofaringe, *H. influenzae* y *S. pneumoniae* poseen proteasas indistintas similares.

El **cólera** es causado por la colonización del intestino delgado por *Vibrio cholerae* y la acción posterior de su enterotoxina. Las subunidades B de la toxina se unen a los receptores específicos GM1 monosialogangliósidos y traslocan la subunidad A a través de la membrana donde activa la adenilciclasa. El aumento del cAMP causa luego la pérdida de líquido por inhibición de la captación de cloruro de sodio y estimulación de la secreción activa de Cl^- por las células del epitelio intestinal. Los anticuerpos IgA sintetizados en el nivel local contra el lipopolisacárido y la toxina de *V. cholerae* proporcionan protección independiente contra el cólera, los primeros al inhibir la adherencia bacteriana a la pared intestinal, los segundos por el bloqueo de la adherencia de la toxina a su receptor. Concordantes con este análisis son los datos epidemiológicos que muestran que los niños que beben leche con altos títulos de anticuerpos IgA específica para ambos de estos antígenos desarrollan con menos probabilidad el cólera clínico.

Yersinia y *Salmonella* figuran entre el número selecto de patógenos bacterianos que desarrollaron mecanismos especiales para penetrar, sobrevivir y reproducirse dentro de las **células del huésped** por lo común **no fagocíticas**. La primera gana acceso por medio de la unión de su proteína de membrana externa, invasina, a numerosos receptores integrina β_1 en la célula del huésped. *Salmonella*, por otro lado, induce la formación de rizos en la célula blanco, unida de alguna manera a procesos de señalización que conducen a la captación bacteriana.

Las maneras por las que los anticuerpos pueden rechazar las diferentes facetas de la invasión bacteriana se resumen en la figura 13-12.

BACTERIAS QUE SE DESARROLLAN EN UN HÁBITAT INTRACELULAR

Artimañas bacterianas

Algunas cepas de bacterias, como los bacilos de la tuberculosis y de la lepra, y los microorganismos *Listeria* y *Brucella*, escapan del sistema inmune mediante el descarado desarrollo de una vida intracelular dentro de una de sus fortalezas, nada menos que el macrófago. Los fagocitos mononucleares son un buen blanco para estos microorganismos en el sentido de que son muy móviles y permiten la amplia diseminación en todo el organismo huésped. La entrada de bacterias opsonizadas está facilitada por la captación fagocítica después de la adherencia a los receptores Fcγ y C3b pero, una vez en su interior, muchas de ellas desafían al poderoso macrófago y alteran de diferentes formas los mecanismos de destrucción innatos. Microorganismos como *Mycobacterium tuberculosis* inhiben la fusión de los lisosomas con la vacuola fagocítica que contiene la bacteria ingerida (fig. 13-13). Los lípidos micobacterianos, como el lipoarabinomanano, obstruyen el cebado y la activación del macrófago, y también protegen a las bacterias del ataque al recoger los residuos de los intermediarios reactivos del oxígeno, como anión superóxido, radicales hidroxilo y peróxido de hidrógeno (véase pág. 6). Los microorganismos como *Listeria monocytogenes* utilizan una lisina especial para escapar de su prisión fagosómica para quedar alegremente libres dentro del citoplasma; algunas rickettsias y el protozoo *Trypanosoma cruzi* pueden hacer lo mismo. Si hay un mecanismo disponible para inhibir, algunos microorganismos terminarán por encontrar una manera de hacerlo.

La defensa se produce por inmunidad mediada por células T (IMC)

En una elegante serie de experimentos, Mackaness demostró la importancia de las reacciones de IMC para la destrucción de parásitos intracelulares y el establecimiento de un estado inmune. Los animales infectados por dosis moderadas de *M. tuberculosis* superaban la infección y eran inmunes al desafío posterior con el bacilo. La inmunidad puede transferirse a un receptor normal con linfocitos T pero no con macrófagos ni suero de un animal inmune. En apoyo de este punto de vista, es decir que la inmunidad específica está mediada por células T, está la mayor susceptibilidad a la infección por bacilos de la tuberculosis y de la lepra de ratones en los que se produjo una depresión de linfocitos T por timectomía más anticuerpos monoclonales anti-células T, o en los que se alteraron los genes TCR por recombinación génica homóloga (ratones noqueados).

Los macrófagos activados destruyen los parásitos intracelulares

Cuando los monocitos se establecen en el tejido definitivo para convertirse en "macrófagos residentes", sufren una regulación en menos con respecto a la expresión y la función de los receptores de superficie. Pueden activarse en varias etapas (fig. 13-14), pero la capacidad para destruir los microbios intracelulares sólo se adquiere después de la estimulación de los factores activadores del macrófago, como IFNγ liberado a partir de las células T productoras de citocinas estimuladas. Entre los mecanismos destructores principales que son regulados en más figuran los mediados por

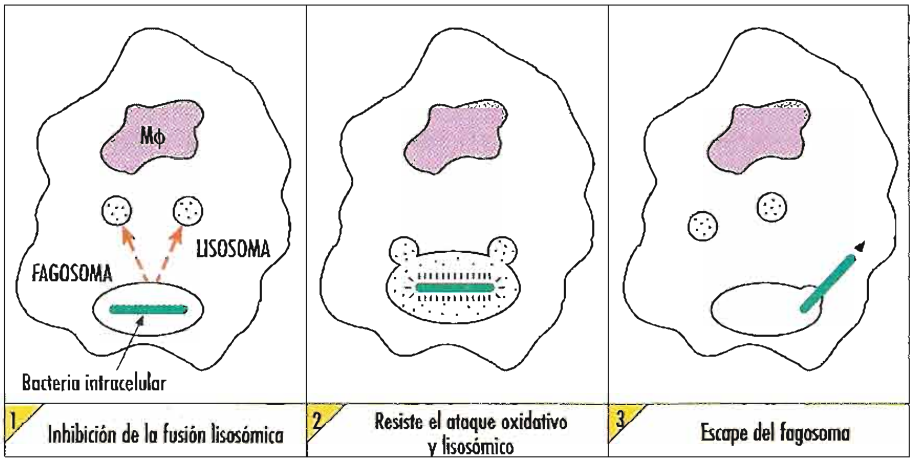

Mϕ
LISOSOMA
FAGOSOMA
Bacteria intracelular
1 Inhibición de la fusión lisosómica
2 Resiste el ataque oxidativo y lisosómico
3 Escape del fagosoma

Fig. 13-13. Evasión de la destrucción fagocítica por las bacterias intracelulares

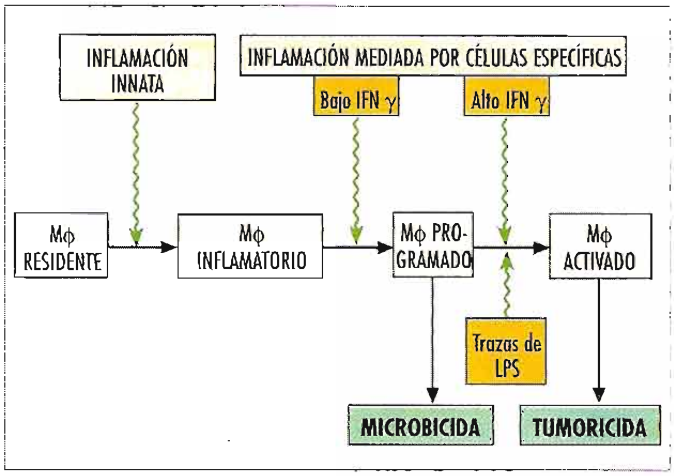


Fig. 13-14. Fases en la activación de los macrófagos (M φ) para las funciones microbicida y tumoricida. Los macrófagos obtenidos de los sitios de inflamación inducidos por el complemento o estímulos no inmunes, como el tioglicolato, presentan aumento considerable de tamaño, contenido de hidrolasa ácida, secreción de proteinasas neutras y función fagocítica. Si podemos dar un ejemplo, los receptores en los de C3b en los Mφ residentes no se mueven con libertad en la membrana y de ese modo no pueden permitir "el proceso de cremallera" requerido para la fagocitosis (véase pág. 6); en consecuencia, se unen pero no ingieren los glóbulos rojos recubiertos por C3b. Por otra parte, los Mφ inflamatorios poseen receptores C3 que despliegan una movilidad lateral considerable y los eritrocitos opsonizados por C3 se fagocitan con facilidad. Además de la espectacular regulación en más de los mecanismos de destrucción intracelular, cambios llamativos en los componentes de superficie acompañan la activación. En los macrófagos del ratón se produce un aumento en las moléculas clase II del CMH (espectacular), receptores Fc para IgG2b y sitios de unión para las células tumorales; por el contrario, el receptor manosa (CD206), el marcador F4/80 y los receptores de IgG2a declinan, mientras el componente Mac-I (CD11b) del receptor CR3 iC3b permanece inalterado.

los intermediarios reactivos del oxígeno y NO·. Sin duda, el macrófago activado es una célula notable y formidable, capaz de secretar alrededor de 60 sustancias involucradas en las reacciones inflamatorias crónicas (fig. 13-15) ¡no de la clase que querríamos encontrar en un callejón en una noche oscura!

Ahora es claro el mecanismo de inmunidad mediada por células T en los experimentos de Mackaness. Las células T programadas de manera específica reaccionan con el antígeno procesado proveniente de las bacterias intracelulares presente en la superficie del macrófago infectado en asociación con CMH II; la liberación posterior de citocinas activa el macrófago y lo dota de la capacidad de matar los microorganismos que fagocitó (fig. 13-16).

Ejemplos de infecciones bacterianas intracelulares

Listeria

Sin dudas, los macrófagos activados por las células T helper-1 (Th1) desempeñan un papel de importancia crucial en la eliminación final de *Listeria* intracelular, pero debe considerarse el papel complejo de los mecanismos innatos al comienzo de la infección. Éstos se perfilan en la figura 13-17, en la que debe prestarse atención a la acción bactericida de los neutrófilos y a la acción central de la IL-12 que genera el activador de macrófagos IFNγ a través de su estimulación de las células NK y el reclutamiento de células T helper Th1. Los ratones mutantes que carecen de células T γδ o αβ, o de ambos tipos, revelan que estos dos tipos celulares realizan contribuciones comparables a la resistencia contra la infección primaria por *Listeria*, pero que el grupo TCR αβ posee la responsabilidad principal al conferir la inmunidad protectora. Las células T γδ controlan la respuesta tisular local en el sitio de la multiplicación microbiana y las mutantes por noqueo γδ desarrollan grandes abscesos cuando se infectan por *Listeria*.

Tuberculosis

La tuberculosis (TB) está en una etapa de agitación, ayudada por la emergencia de cepas de *Mycobacterium tuberculosis* resistentes a múltiples fármacos. Se pronostica que entre 1998 y 2030 se producirá un total de 225 millones de nuevos casos y 79 millones de muertes. Esto se agrava porque los individuos infectados por virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) con recuentos de CD4 presentan una mayor susceptibilidad a la infección por *M. tuberculosis*.

Con respecto a los mecanismos de defensa del huésped, como se observa con la infección por *Listeria*, los macrófagos murinos activados por IFNγ pueden destruir la micobacteria intracelular con una facilidad magistral, en gran medida por medio de la generación de NO· tóxico. Algunos macrófagos parasitados alcanzan una fase en la que están demasiado incapacitados para ser estimulados por los mensajes de las células T y aquí se desarrolla una estrategia algo cruel en la que el huésped despliega células T citotóxicas CD8, y tal vez CD4 y NK, para ejecutar al macrófago desvalido y liberar las micobacterias vivas; éstas deben ser captadas ahora por las células fagocíticas inmigrantes recientes susceptibles de la activación por IFNγ y eliminarse con rapidez (fig. 13-16).

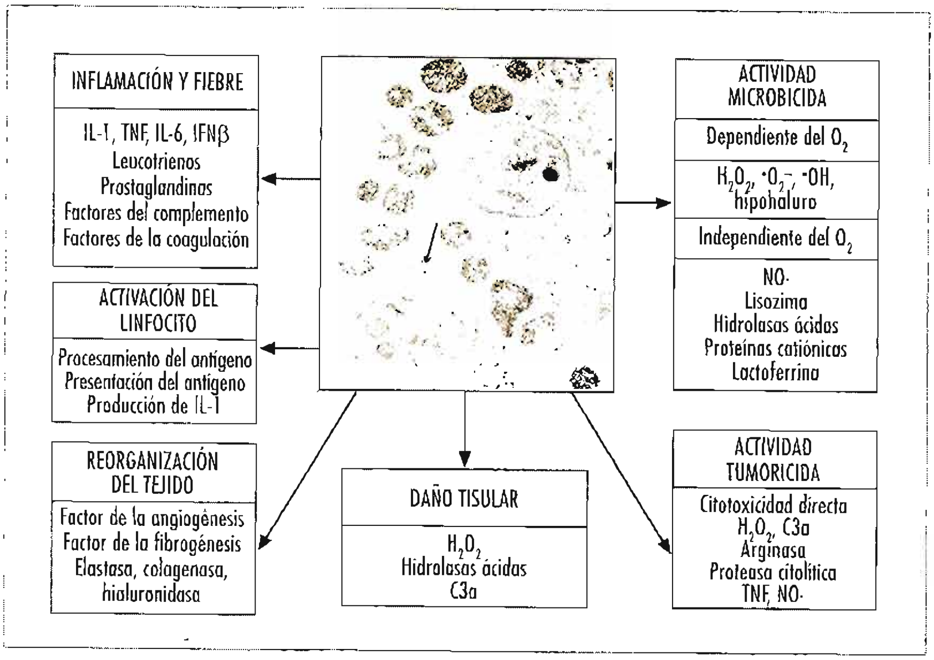

INFLAMACIÓN Y FIEBRE
IL-1, TNF, IL-6, IFNβ
Leucotrienos
Prostaglandinas
Factores del complemento
Factores de la coagulación
ACTIVACIÓN DEL LINFOCITO
Procesamiento del antígeno
Presentación del antígeno
Producción de IL-1
REORGANIZACIÓN DEL TEJIDO
Factor de la angiogénesis
Factor de la fibrogénesis
Elastasa, colagenasa, hialuronidasa
DAÑO TISULAR
H_2O_2
Hidrolasas ácidas
C3a
ACTIVIDAD MICROBICIDA
Dependiente del O_2
H_2O_2, $\cdot O_2^-$, $\cdot OH$, hipohaluro
Independiente del O_2
NO·
Lisozima
Hidrolasas ácidas
Proteínas catiónicas
Lactoferrina
ACTIVIDAD TUMORICIDA
Citotoxicidad directa
H_2O_2, C3a
Arginasa
Proteasa citolítica
TNF, NO·

Fig. 13-15. El papel del macrófago activado en la iniciación y la mediación de la inflamación crónica con la reparación tisular simultánea y en la destrucción de microorganismos y células tumorales. Es posible que los macrófagos se diferencien por vías distintas para ejercer estas diferentes funciones. La microfotografía electrónica muestra un macrófago muy activado con muchas estructuras lisosómicas destacadas por la captación de thorotrast; se observa una de ellas (flecha) en el momento de la fusión con un fagosoma que contiene el protozoo *Toxoplasma gondii*. (Cortesía del profesor C. Jones.)

La situación es más complicada en los seres humanos. Los monocitos humanos estimulados por IFNγ no pueden eliminar el TB intracelular, aunque hay algún grado de estasis e IFNγ regula en más la expresión de la hidroxilasa-1 que convierte la vitamina D_3 en la forma 1,25-dihidroxilada, un activador potente de los mecanismos antimicobacterianos. Sin embargo, no hay inducción de la NO· sintetasa (iNOS tipo II), a menos que también se agregue al sistema IL-4, después de lo cual se produce una cantidad copiosa de NO· en una reacción dependiente de CD23.

Está surgiendo una plétora adicional de posibles mecanismos defensivos. Los productos del TB Ag85B (una micolil transferasa) y ESAT-6 son inductores potentes de IFNγ por las células de CD4. Las células T αβ $CD4^-8^-$ proliferan en respuesta al ácido micólico y lisan las células que presentan el ácido en el contexto de CD1b, mientras que las T $V\gamma_2V\delta_2$ del ser humano reconocen los antígenos proteicos, los isopentenilpirofosfatos y pernil pirofosfatos de *M. tuberculosis*. Las células T γd poseen una relación misteriosa, casi apremiante con los antígenos micobacterianos. Una proporción sustancial de ellos puede lisar las células blanco que presentan antígenos micobacterianos y, en el ratón, un alto porcentaje con una proteína de shock térmico de 65 kDa. El papel vital de estas células en la TB murina está indicado por la muerte de las mutantes con deleción de TCR γδ después de una infección por *M. tuberculosis* que era tolerada por animales inmunocompetentes.

Dadas estas posibles defensas de la IMC, ¿por qué algunos individuos no pueden erradicar sus infecciones con micobacterias y otras bacterias intracelulares facultativas, y por eso padecer las enfermedades como TB y lepra aunque hayan establecido las respuestas de Th1? Un indicio importante lo proporciona la demostración de que las cepas endocriadas de ratones presentan diferencias espectaculares en lo que se refiere a su susceptibilidad frente a la infección por diversas micobacterias, *Salmonella typhimurium* y *Leishmania donovani*. La resistencia se asocia con un estado reforzado, independiente de las células T, de la programación del macrófago para la actividad bactericida que involucra el oxígeno y los radicales nitrógeno. Es más, los macrófagos de las cepas resistentes presentan una mayor expresión de las moléculas clase II del CMH y un estallido respiratorio más alto, se activan con más facilidad por IFNγ, e inducen buena estimulación de las células T, mientras que los macrófagos de las cepas

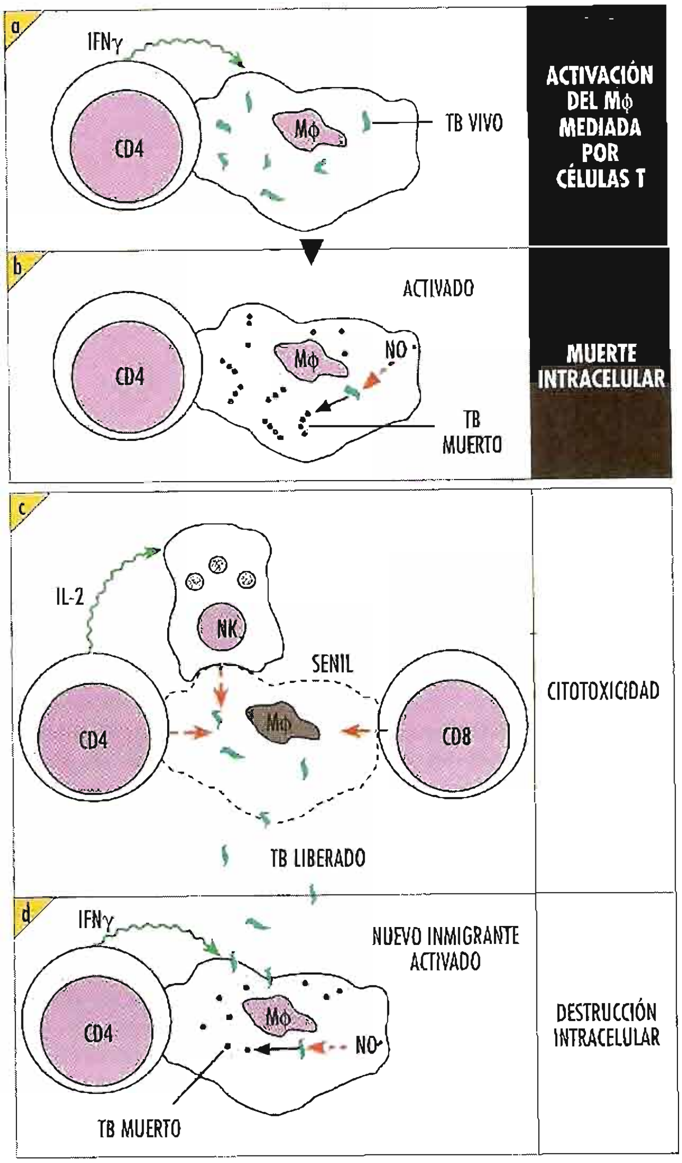


Fig. 13-16. La "conexión citosina": destrucción inespecífica de las bacterias intracelulares por el macrófago murino, inducida por una reacción de inmunidad específica mediada por célula T. a) La célula CD4 Th1 específica reconoce el péptido micobacteriano asociado con la molécula clase II del CMH y libera IFNγ que activa el MΦ. **b)** El MΦ activado mata el TB intracelular, sobre todo por medio de la generación de NO·. **c)** Un MΦ "senil", incapaz de destruir las bacterias intracelulares, es destruido por células citotóxicas CD8 y CD4 y tal vez por células NK activadas por IL-2. El MΦ entonces libera los bacilos tuberculosos vivos que son captados y destruidos por el MΦ recientemente reclutado susceptible a la activación por el IFNγ. **d)** Los monocitos del ser humano requieren la activación por IFNγ e IL-4 más una señal mediada por CD23 para la inducción de iNO· y la producción de NO·.

susceptibles tienden a ejercer efectos supresores sobre la proliferación de células T contra los antígenos micobacterianos. La susceptibilidad y la resistencia contra *Mycobacterium tuberculosis* en los modelos murinos depende de varios genes, entre los que se incluyen *sst1* (susceptibilidad a tuberculosis *1*) y *Nramp1* (proteína 1 del macrófago asociada con resistencia natural; en inglés, *n*atural *r*esistance-*a*ssociated *m*acrophage *p*rotein 1). Por lo menos se identificaron 11 polimorfismos en el *Nramp1* homólogo humano y se llevan a cabo estudios para relacionar los polimorfismos individuales con la susceptibilidad.

Cuando el huésped presenta dificultad para eliminar con eficacia estos microorganismos, la respuesta de IMC crónica al antígeno local conduce a la acumulación densa de macrófagos que liberan factores angiogénicos y fibrogénicos, y estimulan la formación de tejido de granulación y por último fibrosis. Los macrófagos activados, quizá bajo el estímulo de IL-4, se transforman en células epitelioides y se fusionan para transformarse en células gigantes. Como se sugirió antes, el granuloma resultante representa un esfuerzo del organismo huésped para aislar un sitio de infección persistente.

Lepra

En la lepra del ser humano, la enfermedad se presenta como un espectro que varía de la forma **tuberculoide**, con lesiones que contienen cantidades pequeñas de microorganismos viables, a la forma **lepromatosa**, caracterizada por abundancia de *M. leprae* dentro de los macrófagos. El estado tuberculoide se asocia con buenas reacciones de hipersensibilidad cutánea mediadas por células y una predisposición hacia las respuestas tipo-Th1, aunque éstas aún no son lo suficientemente buenas para erradicar a los bacilos por completo. En la forma lepromatosa hay una mala reactividad de células T contra el bacilo entero y mala respuesta cutánea a la lepromina, si bien existen numerosas células plasmáticas que contribuyen con un nivel elevado de anticuerpos circulantes e indican una actividad de Th2 más prominente. Está claro que la IMC es más importante que la inmunidad humoral para el control del bacilo de la lepra, pero las razones para las respuestas inadecuadas de los pacientes lepromatosos todavía son inciertas.

INMUNIDAD CONTRA LA INFECCIÓN VIRAL

Los factores constitucionales controlados por vía genética que convierten a un huésped o a algunas de sus células no permisivas (es decir, resistentes a que el virus se haga cargo de su maquinaria replica-

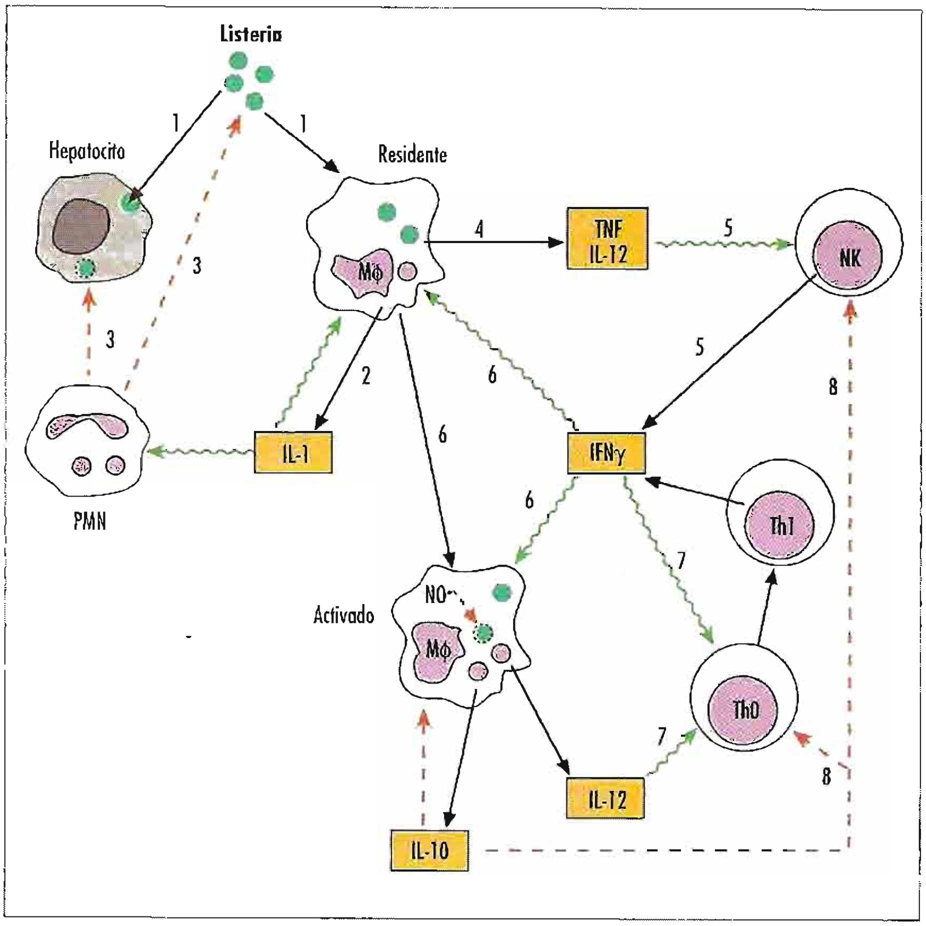


Fig. 13-17. Respuesta inmune frente a la infección por *Listeria*. 1) *Listeria* infecta los macrófagos residentes y los hepatocitos; 2) los MΦ liberan IL-1 que activa los polimorfonucleares; 3) los PMN activados destruyen el bacilo *Listeria* por contacto directo y son citotóxicos para los hepatocitos infectados; 4) los MΦ infectados liberan TNF e IL-12 que estimulan las células NK; 5) las células NK secretan IFNγ que 6) activa el macrófago para producir NO· y la muerte intracelular de *Listeria*; 7) el IFNγ más la IL-12 derivados de los MΦ reclutan células Th1 que refuerzan la activación de MΦ mediante la producción de IFNγ. 8) La síntesis final de IL-10, estimulada por la acción de complejos inmunes, regula en menos la actividad de los MΦ, NK y Th1. (Basado en un artículo de Rogers HW, Tripps CS y Unanue FR [1995] *The Immunologist* 3,152.)

tiva) desempeñan un papel predominante en influir la vulnerabilidad de un individuo dado a la infección. Los macrófagos pueden captar con facilidad de modo inespecífico a los virus y pueden destruirlos. Sin embargo, en algunos casos, permiten la replicación y, si el virus es capaz de producir efectos citopáticos en diversos órganos, la infección puede ser letal; con agentes no citopáticos, como el virus de la coriomeningitis linfocítica, la enfermedad del visón aleutiano y los virus de la anemia infecciosa equina, puede producirse una infección persistente. Los virus pueden evitar el reconocimiento del sistema inmune del huésped mediante la latencia o al albergarse en sitios privilegiados, pero también desarrollaron una serie de estrategias evasivas maliciosamente hábiles.

La inmunidad puede eludirse por cambios del antígeno

Cambios de antígenos por desplazamiento y variación

En el curso de su duelo constante con el sistema inmune, los virus cambian en forma continua la estructura de sus antígenos de superficie. Esto lo realizan por procesos denominados "desplazamiento antigénico" y "variación antigénica", cuya naturaleza puede hacerse más evidente si se consideran diferentes cepas de influenza. La superficie del virus influenza contiene una hemaglutinina, por medio de la cual se adhiere a las células antes de la in-

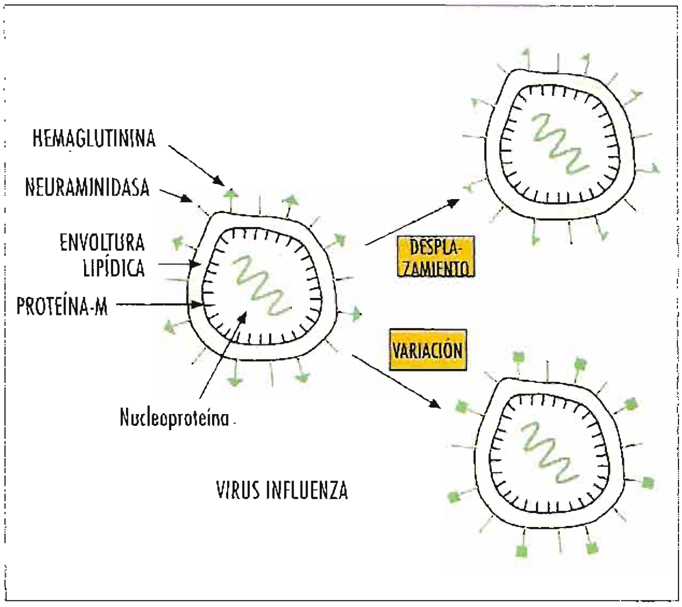


Fig. 13-18. Desplazamiento antigénico y variación antigénica en el virus influenza. Los cambios en la estructura de la hemaglutinina causada por desplazamiento pueden ser bastante pequeños para permitir la protección por la inmunidad en las cepas más tempranas. Esto puede no suceder con los cambios radicales en el antígeno asociado con la variación antigénica y así se producen brotes epidémicos por virus nuevos. Hubo 31 pandemias documentadas de influenza (epidemias extensas que se producen a lo largo de la población) desde la primera pandemia bien descrita de 1580. En el último siglo hubo tres, asociadas con la emergencia por variación antigénica de la gripe española en 1918, con la estructura H_1N_1 (la nomenclatura oficial asigna números a cada variante mayor de hemaglutinina y neuraminidasa), gripe asiática en 1957 (H_2N_2) y gripe de Hong Kong en 1968 (H_3N_2); nótese que cada nueva epidemia se asoció con un cambio fundamental en la hemaglutinina. La pandemia en 1918 produjo la muerte de 40 millones de personas.

fección, y una neuraminidasa, que libera el virus recientemente formado del ácido siálico de la superficie de la célula infectada; de éstas, la hemaglutinina es la más importante para el establecimiento de la inmunidad protectora. Los cambios menores en la antigenicidad de la hemaglutinina se producen por medio de mutaciones puntuales en el genoma viral (**desplazamiento**), pero los cambios mayores se originan mediante el intercambio en grande de material genético con reservorios de diferentes virus en otros huéspedes animales (**variación**) (fig. 13-18). Cuando las alteraciones en la hemaglutinina son suficientes para tornar ineficaz la inmunidad previa, aparecen brotes nuevos de epidemia de influenza.

Las mutaciones pueden verse favorecidas por la presión selectiva que ejercen los anticuerpos. De hecho, una estrategia actual para la generación de mutantes en un epítopo dado es permitir el desarrollo viral en un cultivo de tejido en presencia de un anticuerpo monoclonal que reaccione con ese epítopo; sólo las mutantes que no se unan al anticuerpo monoclonal escaparán y podrán proliferar. Este principio es la base de la variación antigénica característica de los rinovirus que causan el resfrío común. El sitio de unión y penetración de las células mucosas que poseen ICAM-1 es un bolsillo hidrófobo que yace en el piso de un cañón que se consideraba demasiado grande para que los anticuerpos pudieran penetrar. Muchos anticuerpos reaccionan con el margen del cañón viral y en consecuencia las mutaciones en el margen permitirían al virus escapar de la respuesta inmune del huésped sin afectar el sitio para la unión a la célula blanco. Sin embargo, en un estudio estructural reciente se identificaron tres anticuerpos neutralizantes con Fabs que contactan con una proporción significativa del cañón que se superpone en forma directa con el sitio de unión ICAM-1. Se sintetizaron fármacos hidrófobos que encajan en el cañón de los rinovirus y producen un cambio en la conformación que impide la unión a las células y, dado que las proteínas del huésped poseen plegamientos muy diferentes a los de la molécula de la cápside viral, los fármacos presentan citotoxicidad limitada. Se diseñó un fármaco más reciente para introducirse en el sustrato-sitio de unión de la neuraminidasa, con lo que se inhibe su actividad biológica.

La mutación puede producir epítopos de células T antagónicos

El virus de la hepatitis B aislado de pacientes con infección crónica puede presentar epítopos variantes que actúan como antagonistas del TCR, capaces de inhibir las células T citotóxicas antivirales que aparecen de manera natural. Las mutaciones que modifican los residuos críticos para el reconocimiento por el CMH o el TCR pueden generar agonistas parciales que es factible que induzcan un estado profundo y de larga duración de anergia de células T (véase pág. 262 y fig. 9-8). Cualquier estrategia puede conducir a la infección persistente.

Algunos virus pueden afectar el procesamiento del antígeno

Casi todos los pasos del procesamiento y la presentación del antígeno pueden ser saboteados por un virus u otro. Así, EBNA-1, el antígeno-1 nuclear del virus de Epstein-Barr (EBV), contiene repeticiones de alanina-glicina que inhiben el procesamiento del virus mediado por proteasomas. El péptido de unión al TAP es evitado por la proteína 47 de la célula infectada (ICP47) por el virus herpes simple, mientras que la proteína US6 de citomegalovirus (CMV) impide el transporte de péptidos a través del poro TAP. Otras proteínas de CMV pueden unirse a las moléculas clase I del CMH en el retículo endoplasmático y en consecuencia retenerlas en él; aún otros remiten las moléculas a las vías de degradación. Las proteínas K3 y K5 del herpesvirus regula en menos la expresión de las moléculas clase I. El efecto neto es una falta de superficie blanco en las células T citotóxicas. Con respecto a las células NK, que destruyen a las que carecen de CMH clase I, las proteínas clase I de los homólogos codificados por CMV previenen la lisis mediada por NK.

La vía de las moléculas clase II del CMH no está exenta de esta interferencia. La molécula Nef del HIV afecta el tráfico de la vesícula y el proceso endocítico involucrado en la generación de péptidos, mientras que la proteína EIA de adenovirus interfiere con la regulación en más de la expresión de las moléculas clase II del CMH mediada por IFNγ.

Los virus pueden interferir con los mecanismos efectores inmunes

Jugando con las respuestas humorales del huésped

Así como las bacterias poseen proteínas capaces de unirse a la región Fc del anticuerpo (véase pág. 295), ciertos virus también poseen receptores Fcγ. El virus herpes simple (HSV) tipos 1 y 2, el coronavirus y el citomegalovirus murinos poseen este tipo de moléculas que, por unión con el anticuerpo "de la manera equivocada", pueden inhibir las funciones efectoras mediadas por Fc.

Como vimos en el caso de las bacterias (véase pág. 288), los virus pueden bloquear la inducción de la respuesta inflamatoria mediada por el complemento y en consecuencia impedir la destrucción viral. Los virus de la varicela codifican una proteína control del complemento VCP (IMP) que se une a C3b y C4b, lo que transforma a las C3 convertasas tanto clásica ($\overline{C4b2a}$) como alternativa ($\overline{C3bBb}$) en susceptibles a la destrucción mediada por el factor I. Por su parte, el herpes simple tipo I altera la cascada del complemento en virtud de su glucoproteína C de superficie que se une al C3b, lo que interfiere con su interacción con C5 y properdina.

Varios virus utilizan los receptores del complemento para ganar acceso al interior de las células, en especial dado que la ocupación del receptor del complemento sólo en un macrófago es un activador débil del estallido respiratorio. Los flavivirus recubiertos con iC3b penetran a través de los receptores CR3. Los miembros de la familia de reguladores de la activación del complemento (RCA) son utilizados como receptores celulares para los diversos virus, como CD46 (proteína cofactor de membrana) por el virus del sarampión y los herpes virus humanos-6 (HHV-6), y CD55 (factor acelerador de la degradación) utilizado por echovirus y virus coxsackie. Como se mencionó antes, EBV infecta las células B mediante la unión a los receptores de superficie CR2. De manera siniestra, el HIV recubierto con anticuerpo y complemento es más virulento que el virus no opsonizado.

La inmunidad mediada por células también puede manipularse

El virus parainfluenza tipo 2 inhibe con intensidad las células Tc mediante la regulación en menos de la expresión de la granzima B (véase pág. 19). Los numerosos marcos de lectura abiertos virales codifican proteínas homólogas de las citocinas del huésped y sus receptores. Las estrategias anti-IFN son en particular abundantes, con muchos virus que producen proteínas capaces de bloquear las vías de activación JAK/STAT inducidas por IFN. Un blanco viral fundamental también es la activación de la proteína cinasa (PKR) dependiente del RNA de doble cadena y otros componentes de la célula que se considera intervienen en la preparación de un estado antiviral en las células luego de su exposición al IFN. El virus de la fiebre porcina africana con tropismo por los macrófagos codifica un homólogo IκB y en consecuencia bloquea la transcripción mediada por NFκB de los genes citocina. Algunos virus, como el de la ectromelia (viruela del ratón), produce homólogos de las moléculas semaforina que se unen a los receptores semaforinas en los macrófagos, por lo que induce estas vías de señalización en las células del huésped, un proceso que puede facilitar la replicación viral. Las proteínas codificadas por poxvirus del ser humano pueden unirse a IL-18 y en consecuencia inhibir la producción de IFNγ inducida por IL-18 y las respuestas de NK. La lista apenas comienza. La apoptosis de una célula podría considerarse mala noticia para un virus que vive con gran comodidad dentro de ella.

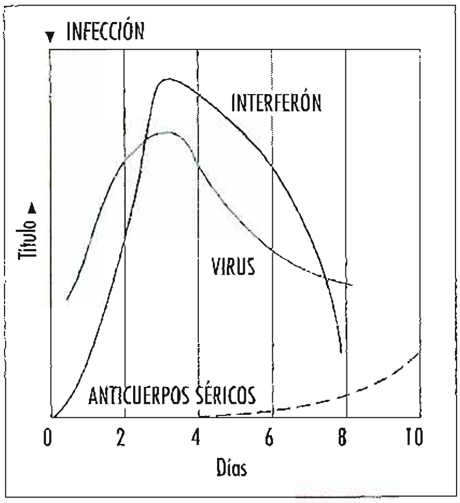


Fig. 13-19. Aparición de interferón y anticuerpos séricos en relación con la recuperación de la infección por virus influenza de los pulmones de ratones. (De Isaacs A. [1961] *New Scientist* 11, 81.)

Por consiguiente, de nuevo no es sorprendente que los virus hayan establecido maneras para prevenir la apoptosis. Sólo un par de ejemplos. El gen *14.7K* de los adenovirus codifica una proteína que se une a la caspasa 8 y en consecuencia la inhibe. Varios herpesvirus codifican homólogos de la proteína antiapoptósica bcl-2. Por el contrario, algunas proteínas virales pueden ser proapoptósicas, es posible que en este caso ayuden con la diseminación de partículas virales.

Un producto del EBV con una identidad del 84% con la IL-10 humana ayuda al virus para escapar de los efectos antivirales del IFNγ mediante la regulación en menos de las células Th1. Los poxvirus codifican homólogos solubles del receptor IFN α/β y del IFNγR, lo que por lo tanto inhibe de manera competitiva la acción de los tres interferones. Otros, en particular herpesvirus y poxvirus, poseen diversos genes que codifican proteínas tipo quimiocina y tipo receptor de quimiocina que pueden alterar la acción de numerosas quimiocinas.

Protección por anticuerpos séricos

Las moléculas de anticuerpos pueden neutralizar los virus por una variedad de maneras. Pueden inhibir de modo estereoquímico la combinación con el sitio del receptor en las células, lo que en consecuencia impide la penetración y la multiplicación intracelular posterior, el efecto protector de los anticuerpos contra la hemaglutinina del virus influenza proporciona un buen ejemplo. De manera similar, los anticuerpos contra la hemaglutinina del virus del sarampión impiden la entrada en la célula, pero la forma de diseminación del virus de célula a célula es detenida por los anticuerpos contra el antígeno de fusión. Los anticuerpos pueden destruir una partícula viral libre de manera directa mediante la activación de la vía clásica del complemento o producir la agregación, incrementar la fagocitosis y la muerte intracelular por los mecanismos ya comentados.

Las concentraciones relativamente bajas de anticuerpos circulantes pueden ser eficaces y ya estamos familiarizados con la protección que brindan los anticuerpos contra la poliomielitis y la γ-globulina del ser humano administrada de manera profiláctica a individuos expuestos al sarampión. La protección mejor definida se observa en enfermedades con períodos prolongados de incubación en los que el virus debe viajar por el torrente sanguíneo antes de alcanzar el tejido al que por último infecta. Por ejemplo, en la poliomielitis, el virus gana acceso al organismo huésped por el tracto gastrointestinal y con posterioridad pasa a través de la circulación para alcanzar las células del cerebro a las que infecta. Dentro de la sangre, el virus es neutralizado por niveles bastante bajos de anticuerpos específicos, mientras que el período prolongado antes de que el virus infecte el cerebro da tiempo para que se desarrolle una respuesta inmune secundaria en un huésped ya expuesto a ese virus.

Factores locales

Con otras enfermedades virales, como influenza y resfrío común, hay un corto período de incubación, relacionado con que el órgano blanco terminal para el virus es el mismo que el de la puerta de entrada y no se presenta una etapa intermedia con pasaje por el resto del cuerpo. Hay poco tiempo para que se monte una respuesta primaria de anticuerpos y con toda probabilidad la **producción rápida de interferón** es el mecanismo más importante para oponerse a la infección viral. Los estudios experimentales indican con certeza que, después de un pico temprano en la producción del interferón, hay una caída rápida en el título de virus viable en los pulmones de ratones infectados por influenza (fig. 13-19). Los anticuerpos, evaluados por los títulos séricos, parecen arribar demasiado tarde a la escena para resultar de valor en la ayuda de la recuperación. Sin embargo, los niveles de anticuerpos pueden estar elevados en los líquidos locales que bañan las superficies infectadas, por ejemplo, mucosa nasal y pulmones, a pesar de los títulos séricos bajos y, es la producción de **anticuerpos antivirales** (más importante de IgA) elaborados por las células programadas por el sistema inmune el factor de mayor importancia para la **prevención de la infección posterior.** Lamentablemente, en lo que se refiere al resfrío común, es probable que una infección posterior involucre un virus no relacionado desde el punto de vista antigénico, de modo que es difícil lograr una inmunidad general para los resfríos.

La inmunidad mediada por células puede llegar hasta el virus intracelular

En el capítulo 2, en el punto general destacamos que, en una primera aproximación, los anticuerpos son los que participan contra agentes infecciosos extracelulares y la IMC con los agentes intracelulares. Esto también es cierto para los virus que tratan de refugiarse de los anticuerpos en un hábitat intracelular. Los anticuerpos locales o sistémicos pueden bloquear la diseminación de virus citolíticos liberados de la célula huésped que mataron, si bien solos por lo común son inadecuados para controlar a los virus que salen de la superficie celular por un mecanismo de gemación como partículas infecciosas, porque también son capaces de diseminarse a las células adyacentes sin estar expuestos a los anticuerpos (fig. 13-20). La importancia de la IMC para la recuperación de la infección con estos agentes se destaca por la incapacidad de los niños con inmunodeficiencia primaria de células T de luchar contra estos virus, mientras que los pacientes con deficiencia de Ig pero IMC intacta no presentan este tipo de problemas.

Las células NK pueden destruir los blancos infectados por virus

En los capítulos anteriores explicamos el modo en que el reconocimiento temprano y la destrucción de una célula infectada por el virus antes de que se produzca la replicación generan un beneficio obvio para el huésped. La importancia de la célula NK en este papel como agente de inmunidad innata preformada puede evaluarse a partir de las observaciones realizadas en pacientes ocasionales con ausencia completa de estas células, quienes sufren infecciones virales recurrentes como EBV, varicela y citomegalovirus (CMV), con riesgo de muerte. Es probable que la superficie de una célula infectada por un virus sufra una modificación en las estructuras hidrocarbonadas de la superficie, lo que la convierte en un blanco atractivo para las células NK, que pueden ser citotóxicas in vitro para las células infectadas por varios virus diferentes. La célula NK posee dos familias de receptores de superficie. Una de ellas comprende los de activación killer, que se unen a los hidratos de carbono y otras estructuras expresadas de modo colectivo por todas las células; la otra familia comprende los receptores de inhibición killer que reconocen las moléculas clase I del CMH y vencen la señal del receptor de activación. Así, la sensibilidad de la célula blanco se relaciona en gran medida con la expresión de la molécula clase I del propio CMH; los blancos sensibles poseen escasas moléculas clase I, pero la transfección con moléculas del propio CMH por lo general los protegerán. Karrer sugirió que, mientras que las células T buscan la presencia de formas extrañas, las células NK inspeccionan los tejidos para determinar la ausencia de lo propio como lo indica la expresión aberrante o ausente de la molécula clase I del CMH, que podría presentarse en la oncogénesis o en ciertas infecciones virales. La capacidad que EBV tiene de regular en menos la clase I explicaría la naturaleza drástica de esta infección en los pacientes con deficiencia de NK mencionados antes. La producción de IFNα durante la infección viral no sólo protege las células circundantes, sino también activa las células NK y regula en más la expresión de CMH en las células adyacentes, para convertirlas en más resistentes a la citotoxicidad.

Las células T citotóxicas (Tc) son elementos cruciales en la inmunidad contra la infección por virus brotantes

Los linfocitos T de un huésped sensibilizado son directamente citotóxicos contra las células infectadas por virus, los nuevos antígenos peptídicos asociados con el CMH en la superficie de la célula blanco son reconocidos por receptores αβ específicos en los linfocitos agresores. Hay una frecuencia bastante sorprendente de especificidades duales en el reconocimiento de la célula blanco por los clones Tc específicos para el virus, que pueden lisar células alogénicas o blanco no infectadas que expresan péptidos con poca homología de las regiones diferentes de la misma proteína viral, de distintas proteínas del mismo virus o incluso de virus diversos no relacionados. Por eso, la activación por un segundo virus puede contribuir para mantener la memoria, y es factible una inmunidad espontánea an-

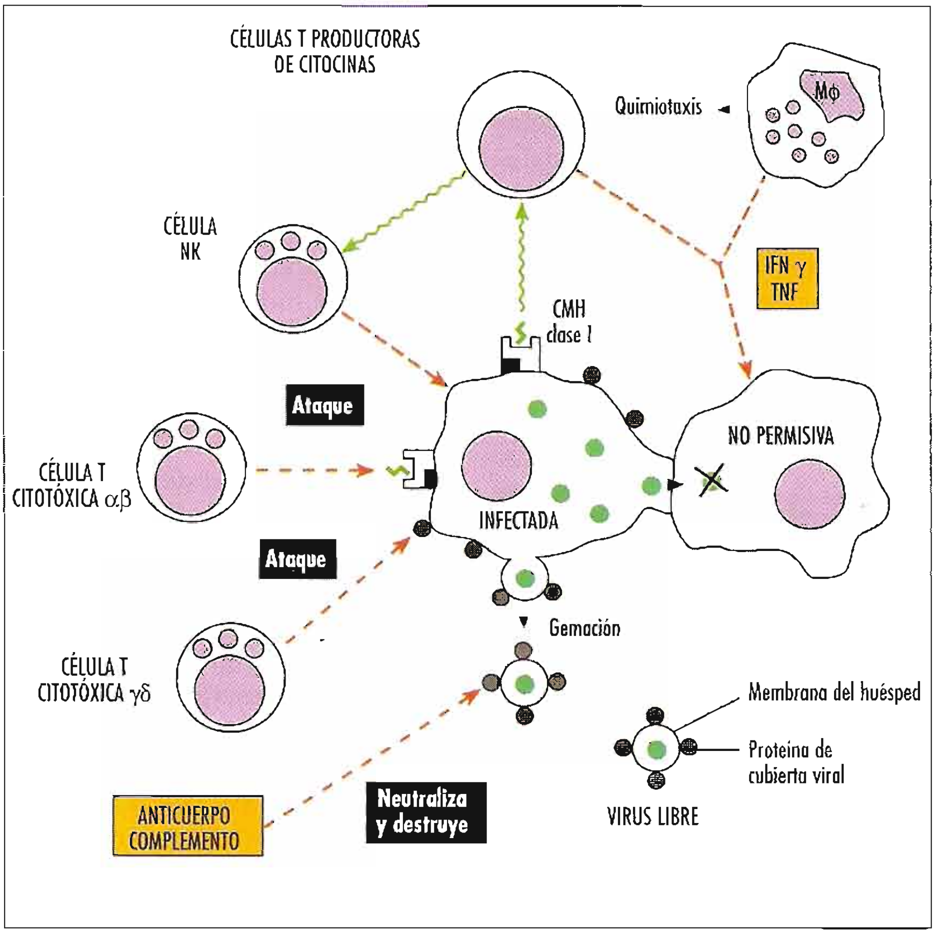


Fig. 13-20. Control de la infección por virus "en gemación". Los virus libres liberados por gemación desde la superficie celular son neutralizados por los anticuerpos. Las células T citotóxicas específicas destruyen directamente los blancos infectados por virus. La interacción con una subpoblación (¿separada?) de células T produce la liberación de citocinas que atraen los macrófagos, programa las células contiguas con IFNγ y TNF para convertirlas en resistentes a la infección viral y activa las células NK citotóxicas. Las células NK son productoras poderosas de IFNγ y GM-CSF. Pueden reconocer una falta de moléculas clase I del CMH en la membrana celular infectada o compartir una citotoxicidad dependiente de anticuerpos (CCDA) si los anticuerpos contra las proteínas de la cubierta viral están unidos a la célula infectada. Dentro de este grupo de virus brotantes se encuentran: oncornavirus (= RNA virus oncogénicos, p. ej., virus leucemogénico murino), orthomyxovirus (influenza), paramyxovirus (parotiditis, sarampión), togavirus (dengue), rhabdovirus (rabia), arenavirus (coriomeningitis linfocítica), adenovirus, herpesvirus (simple, varicela-zoster, citomegalovirus, Epstein-Barr, enfermedad de Marek), poxvirus (vaccinia), papovavirus (SV40, polioma) y virus de la rubéola.

te un virus no relacionado después de la infección inicial con una cepa que reacciona en forma cruzada. La regulación en menos de la molécula clase I del CMH no plantea problema alguno para el receptor **TCR1 γδ de la célula Tc** que reconoce la proteína de la cubierta viral nativa (p. ej., glucoproteína del virus herpes simple) sobre la superficie celular (fig. 13-20).

Las células Tc suelen detectarse en los linfocitos de sangre periférica de individuos recuperados de la infección por influenza, CMV o EBV por reexposición in vitro a células infectadas de manera apropiada. Por ejemplo, en el caso de CMV, los blancos son células con "antígenos tempranos" en su superficie expresada dentro de las 6 horas de la infección. Como se comentó, es claramente ventajoso para la célula citotóxica atacar enseguida después de la infección. En estudios realizados en voluntarios se demostró que los niveles elevados de actividad citotóxica antes del desafío con virus influenza viable se correlacionan con una diseminación baja o ausente del virus; esto habla a favor de la importancia de las células Tc en la infección viral humana.

Después de una infección natural se generan anticuerpos y células Tc; la protección posterior perdura durante mucho tiempo sin reinfección, es posible que sea reforzada por la activación simultánea a través de citocinas liberadas por otras células T estimuladas, o quizá por una estimulación al azar por virus no relacionados basados en la especificidad dual descrita antes. Por el contrario, la inoculación de virus influenza muertos produce anticuerpos pero no Tc y la protección sólo es efectiva en el corto plazo.

Las citocinas reclutan efectores y proporcionan un "cordón sanitario"

Varios estudios sobre la transferencia de la protección contra influenza, coriomeningitis linfocítica, vaccinia (vacuna), ectromelia e infecciones por CMV se centraron en las células T CD8 más que en las CD4 como la fuerza defensiva principal. La respuesta refleja sería implicar a la citotoxicidad, pero también debe recordarse que las células CD8 producen citocinas. Esto bien puede ser crucial cuando los virus escapan del mecanismo citotóxico y logran deslizarse en sentido lateral para introducirse en una célula adyacente. La IMC puede ahora jugar algunas cartas nuevas: si las células T estimuladas por el antígeno viral liberan citocinas como IFNγ y quimiocinas de macrófagos o monocitos, los fagocitos mononucleares atraídos al sitio se activarán para secretar TNF, que de manera sinérgica con IFNγ mantendrán a las células contiguas no permisivas para la replicación de cualquier virus adquirido por transferencia intercelular (fig. 13-20). De esta manera, el sitio de infección puede rodearse por un cordón de células resistentes. Como ocurre con IFNα, IFNγ aumenta la citotoxicidad inespecífica de las células NK (véase pág. 19) para las células infectadas. Esta generación de "interferón inmune" (IFNγ) y TNF como respuesta a los componentes virales diferentes de los ácidos nucleicos proporciona un mecanismo de reserva valioso cuando se trata de virus que son en forma intrínseca malos estimuladores de la síntesis de interferón.

El anticuerpo también cumple su parte

La neutralización de las partículas de virus libres por los anticuerpos es relativamente directa, pero la interacción con las células infectadas es bastante más compleja. El acceso a los antígenos de superficie por las células T αβ no puede bloquearse por anticuerpos, ya que estas células reconocen el antígeno procesado, mientras que el anticuerpo se une al antígeno nativo. Sin embargo, los anticuerpos pueden bloquear las células Tc γδ por la reacción con el antígeno de superficie de los viriones con brotación incipiente, pero deberían ser capaces de iniciar la CCDA (pág. 34) como se publicó en las células blanco infectadas por herpes, vaccinia y parotiditis.

Es necesario no olvidar la importancia de los anticuerpos en la **prevención de la reinfección** por la mayoría de los virus.

INMUNIDAD CONTRA LOS HONGOS

No se conoce demasiado sobre este tema. Muchas infecciones micóticas se establecen en huéspedes inmunocomprometidos o cuando se produce una alteración de la flora comensal normal por la administración prolongada de antibióticos de amplio espectro. Las células T son importantes en la defensa y pueden reconocer antígenos de los microorganismos como *Cryptococcus neoformans* y *Candida albicans*, para destruirlas por el sistema de la granzima. Las células NK también pueden lisar *C. neoformans*.

INMUNIDAD CONTRA LAS INFECCIONES PARASITARIAS

En la figura 13-21 se mencionan los diversos microorganismos responsables de las principales enfermedades parasitarias. La cantidad de personas afectadas es por cierto alarmante y la miseria que estos microorganismos engendran es demasiado grande para comprenderla. Las consecuencias de parasitismo podrían ser, en un extremo del espectro, una falta de respuesta inmune que conduce a sobreinfección aplastante, y, en el otro extremo, una respuesta inmunopatológica exagerada con riesgo de muerte. Para lograr su objetivo, un parásito debe dirigir un ciclo *entre* estos extremos, para evitar la muerte del huésped y al mismo tiempo escapar de la destrucción por el sistema inmune. En la práctica, cada tipo de parásito es casi un mundo en lo que respecta a la complejidad de los mecanismos por los que esto se logra.

Las respuestas del huésped

El huésped despliega una amplia variedad de mecanismos defensivos, pero de manera muy general puede decirse que se desarrolla una respuesta humoral cuando los microorganismos invaden la circulación sanguínea (paludismo, tripanosomiasis), mientras que los parásitos que se desarrollan dentro de los tejidos (p. ej., leishmaniasis cutánea) por lo co-

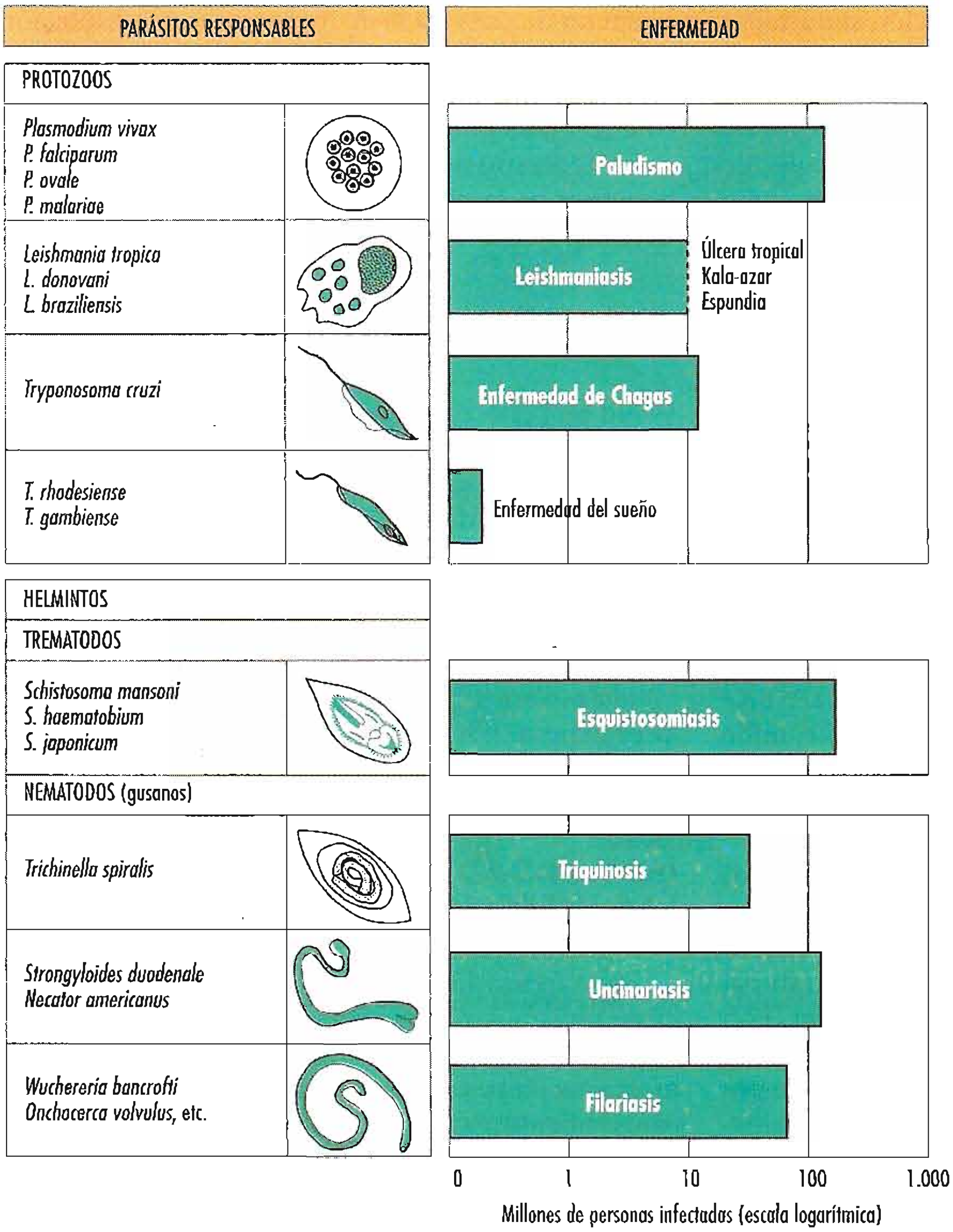


Fig. 13-21. Principales parásitos de los seres humanos y cantidad enorme de personas infectadas. (Datos de la Organización Mundial de la Salud, 1990.)

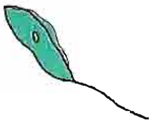
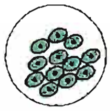
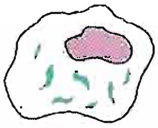
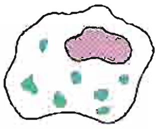
mún desencadenan una IMC (cuadro 13-1). A menudo, un huésped con infección crónica será resistente a la reinfección por microorganismos nuevos, una situación denominada **inmunidad concomitante**. En particular esto se observa en la esquistosomiasis pero también en el paludismo donde históricamente el fenómeno se denominó "premunición". Las formas residentes e infectantes deben diferir de alguna manera que aún debe determinarse con precisión.

Inmunidad humoral

Los anticuerpos con especificidad correcta presentes en concentraciones y afinidad adecuadas son bastante eficaces para proporcionar protección contra los parásitos transportados por sangre, como *Trypanosoma brucei* y los estadios de esporozoíto y merozoíto del paludismo. Así, los individuos que reciben IgG proveniente de adultos con inmunidad sólida en áreas endémicas de paludismo están protegidos de modo transitorio contra la infección y los mecanismos efectores son la opsonización y la fagocitosis, así como la lisis dependiente del complemento.

Una característica marcada de la reacción inmune contra las infecciones helmínticas como *Trichinella spiralis* en los seres humanos y *Nippostrongylus brasiliensis* en la rata, es la eosinofilia y el nivel elevado de anticuerpos IgE producidos. En los seres humanos, los niveles séricos de IgE pueden elevarse de los valores normales de alrededor de 100 ng/mL a cifras tan altas como 10.000 ng/mL. Estos cambios tienen todas las características distintivas de una respuesta ante las citocinas tipo Th2 (véase pág. 203) y es notable que, en los animales infectados por hel-

Cuadro 13-1. *La importancia relativa de las respuestas de anticuerpos y mediadas por células en las infecciones por protozoos*

PARÁSITO	TRIPANOSOMA BRUCEI	PLASMODIUM	TRIPANOSOMA CRUZI	LEISHMANIA
HÁBITAT	Libre en sangre 	Dentro del glóbulo rojo 	Dentro del macrófago 	Dentro del macrófago 
ANTICUERPO				
Importancia	++++	+++	++	+
Mecanismo	Lisis con complemento Opsonización para la fagocitosis.	Bloquea la invasión Opsonización para la fagocitosis Hábitat intracelular	Limita la diseminación en la infección aguda	Limita la diseminación
Medios de evasión	Variación antigénica	Variación antigénica	Hábitat intracelular	Hábitat intracelular
MEDIADA POR CÉLULAS				
Importancia	–	+	+++ (Fase crónica)	++++
Mecanismo	–	Activación de macrófagos y células NK mediada por citocinas	Activación del macrófago por citocinas y destrucción por TNF, metabolitos de O_2 y NO· Papel de las células T citotóxicas	

mintos, la inyección de anti-IL-4 reduce en gran medida la producción de IgE y la de anti-IL-5 suprime la eosinofilia. Este aumento excepcional de la IgE alentó el punto de vista de que esta inmunoglobulina representa una línea importante de defensa. Uno puede ver que la estimulación específica por el antígeno de los mastocitos recubiertos por IgE conduciría a la exudación de proteínas séricas que contienen concentraciones elevadas de anticuerpos protectores en todas las clases principales de Ig y la liberación de factor quimiotáctico de eosinófilos. Es pertinente destacar que las esquistosómulas, las formas inmaduras tempranas del esquistosoma, fueron destruidas en cultivos que contienen IgG específica y eosinófilos, las que inducen una forma de CCDA mediante la unión a través de sus receptores FcγRII al parásito recubierto por IgG (fig. 13-22); después de alrededor de 12 horas, la proteína básica principal que forma un core electrodenso de los gránulos eosinofílicos se libera sobre el parásito y provoca su destrucción. Está surgiendo una contribución a este proceso de IMC, ya que los eosinófilos pueden expresar la molécula clase II del CMH y su CCDA mediada por IgG está reforzada con firmeza por el factor estimulador de colónias de granulocitos-macrófagos (GM-CSF) y TNF. Evidencias adicionales de la participación de esta célula provienen del experimento en que la protección brindada por la transferencia pasiva de antisuero in vivo fue bloqueada por el tratamiento previo del receptor con suero antieosinófilo. También se encontró que los eosinófilos pueden destruir la esquistosómula recubierta por IgE, si bien el mecanismo es diferente porque la activación de los receptores IgE (FcεRI) ahora estimula la liberación de factores activadores de plaquetas y la peroxidasa de los eosinófilos. Esta dicotomía en las vías del receptor Fcγ y Fcε también se evidencia en las publicaciones en las que la IgE, pero no la IgG, puede mediar la destrucción del esquistosoma por los macrófagos o las plaquetas.

Deben mencionarse dos puntos adicionales deben mencionarse. Las reacciones mediadas por IgE pueden ser vitales para la recuperación de la infección, mientras que la resistencia en los huéspedes vacunados puede depender más de los anticuerpos IgG e IgA preformados.

Inmunidad mediada por células

Como en el caso de las micobacterias, muchos parásitos se adaptaron a la vida dentro del macrófago a pesar de los potentes mecanismos de microbicidas que posee esta célula, entre los que se incluye el NO· (fig. 13-23). Los microorganismos intracelulares, como *Toxoplasma gondii*, *Trypanosoma cruzi* y especies de *Leishmania*, utilizan una variedad de tácticas para alterar los sistemas de destrucción de los macrófagos (véase más adelante) pero, de nuevo, como en las infecciones por micobacterias, las

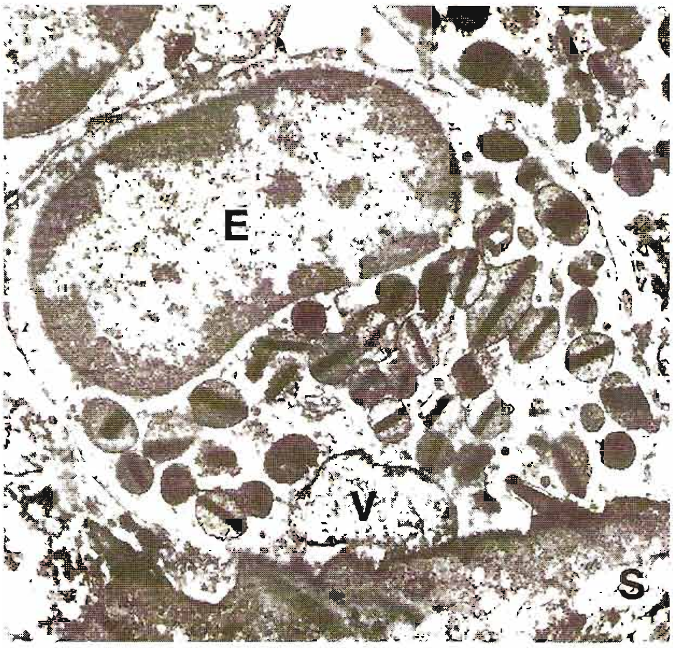


Fig. 13-22. Microfotografía electrónica que muestra un eosinófilo (E) adherido a la superficie de una esquistosómula (S) en presencia de anticuerpos específicos. La célula desarrolla grandes vacuolas (V) que parecen liberar sus contenidos sobre el parásito (× 16.500). (Cortesía de los doctores D.J. McLaren y C.D. Mackenzie.)

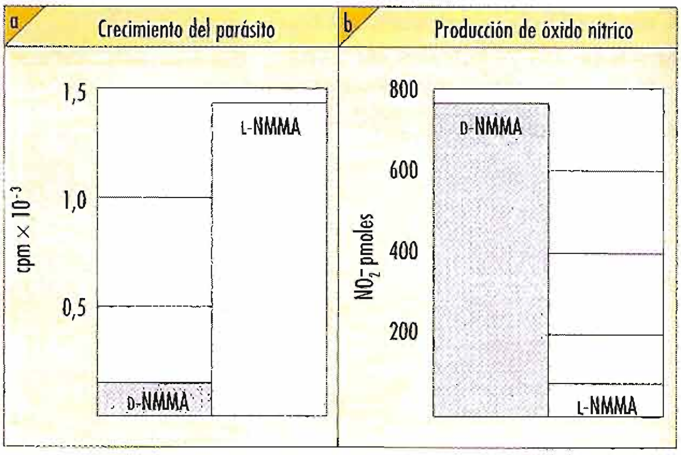


Fig. 13-23. Papel del NO· en la actividad leishmanicida del macrófago. El inhibidor NO· sintetasa L-NMMA (50mM) inhibe la capacidad del macrófago de matar *Leishmania* intracelular donde el crecimiento es monitoreado por la incorporación de $[^3H]$ timidina (a) y también bloquea la producción de NO medida por la acumulación de NO_2^- en el sobrenadante de un cultivo a las 72 horas (b). El D-isómero, D -NMMA, utilizado como control no inhibe la enzima. (Datos de Liew FY y Cox FEG [1991] *Immunology Today* 12, A1 7.)

células T productoras de citocinas desempeñan un papel crucial para estimular a los macrófagos a desplegar su poder de destrucción y eliminar a los intrusos no deseados.

In vivo, el equilibrio de las citocinas producidas es de suma importancia. La infección de ratones por *Leishmania major* sirve como ejemplo en este aspecto; el microorganismo produce una enfermedad fatal en ratones susceptibles pero otras cepas son resistentes. Esto está controlado en parte por alelos del gen *Nramp-1* (véase pág. 300) pero, como se comentó en el capítulo 10, en los ratones susceptibles hay una estimulación excesiva de células Th2 productoras de IL-4 que no ayuda a eliminar la infección, mientras que las cepas resistentes se caracterizan por la expansión de células Th1 que secretan IFNγ en respuesta al antígeno presentado por el macrófago que albergan los protozoos *viables*. La terapéutica combinada de cepas susceptibles con un fármaco leishmanicida como Pentostam más IL-12, que recluta las células Th1, parece ser promisoria en lo que respecta a que pueda cambiar la actividad de Th2, que exacerba la enfermedad, a respuestas de Th1 protectoras. Los clones de CD4 que sólo reconocen *lisados* del microorganismo no confieren protección aun cuando producen IFNγ, un punto a tomarse en cuenta en la producción de vacunas. Los experimentos en ratones noqueados sugieren que perforinas, granzima B y FasL no son necesarios para la protección brindada a los ratones por vacunación con esporozoítos irradiados. Sin embargo, la inducción de IFNγ y células T CD8$^+$ es de particular importancia para la protección. También se requieren interleucina-12 y óxido nítrico, y las células NK pueden desempeñar un papel secundario.

Los microorganismos, como plasmodios del paludismo y en forma accidental rickettsias y clamidias, viven en células que no son fagocitos profesionales, pueden eliminarse mediante la activación de mecanismos de defensa intracelular por IFNγ liberado por las células T CD8$^+$ o incluso por citotoxicidad directa. Éste es el caso de lo que ocurre en las células hepáticas que albergan los esporozoítos del paludismo y es pertinente destacar que, luego del reconocimiento de una asociación entre HLA-B53 y la protección contra el paludismo grave se demostró la presencia de células Tc restringidas por B53 en la sangre periférica de individuos resistentes, que reaccionan con un nonámero conservado proveniente de un antígeno específico del estadio hepático. Un estudio importante con control de casos de paludismo en niños de Gambia mostró que el antígeno clase I B53 protector es común en los niños de África occidental pero raro en otros grupos raciales,

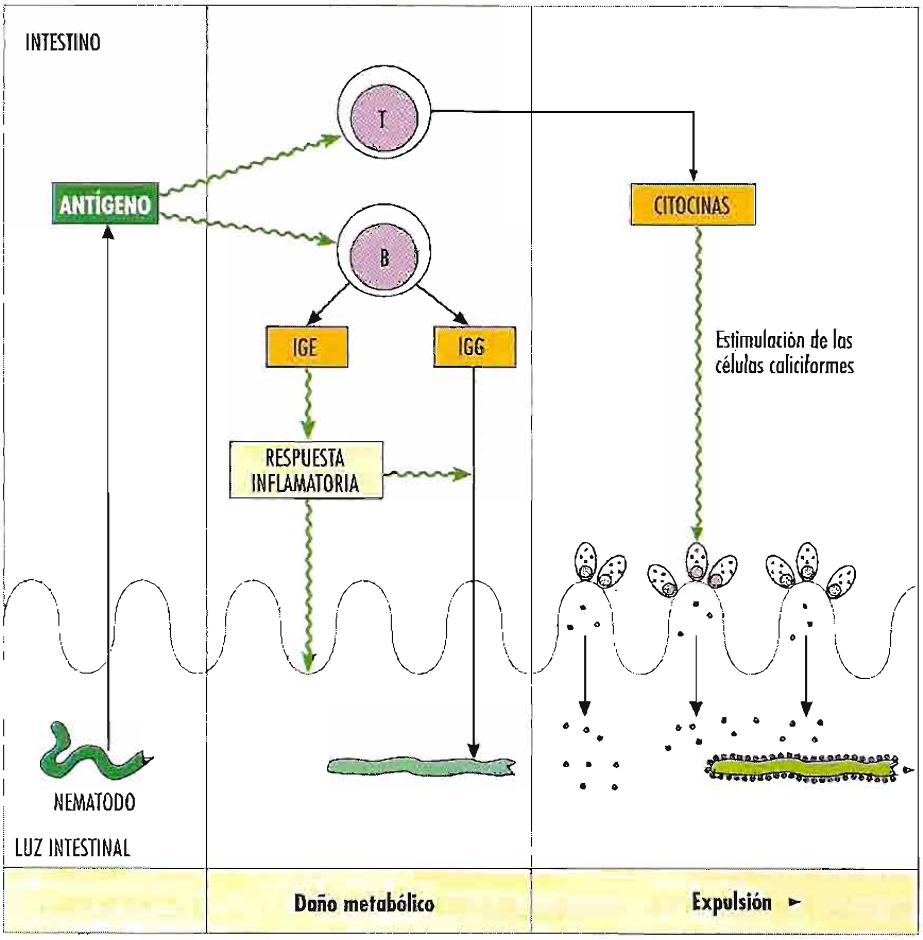


Fig. 13-24. Expulsión de nematodos del intestino. Primero se produce el daño del parásito por los anticuerpos IgG que pasan al interior de la luz intestinal, quizá como consecuencia de inflamación mediada por la IgE y tal vez ayudada por las células CCDA adicionales. Las citocinas liberadas por las células T activadas de manera específica por el antígeno estimulan la proliferación de células caliciformes y la secreción de sustancias mucosas que recubren el parásito dañado, y facilitan su expulsión del organismo huésped por el aumento de la motilidad intestinal inducida por los mediadores de las células cebadas, como el leucotrieno-D4, y la diarrea que es el resultado de la inhibición de la absorción de sodio dependiente de la glucosa por la histamina y la PGE_2 derivadas de las células cebadas.

lo que brinda más credibilidad a la hipótesis de que el polimorfismo del CMH evolucionó en mayor medida por medio de la selección natural por el patógeno infeccioso.

La eliminación de las infestaciones por helmintos del intestino es una operación más astuta y se requieren fuerzas combinadas de la inmunidad celular y humoral para eliminar al invitado no deseado. Uno de los modelos estudiado es la respuesta a *Nippostrongylus brasiliensis*; los estudios de transferencias en ratas mostraron que, si bien los anticuerpos producen algún daño a los parásitos, también se requieren células T de donantes *inmunes* para la expulsión vigorosa, que es probable que se logre mediante una estimulación de la motilidad intestinal mediada por los mastocitos y la activación por citocinas de las innumerables células caliciformes intestinales. Éstas secretan una mezcla compleja de moléculas de alto peso molecular y alto grado de glucosilación que forma un gel viscoelástico alrededor del parásito, lo que protege en consecuencia las superficies colónicas e intestinales de la invasión (fig. 13-24). Otro modelo, esta vez la infección por *Trichinella spiralis* en ratones, de nuevo indica una dualidad de respuestas de citocinas de la subpoblación de células T. Una cepa que expulsa los helmintos adultos con rapidez elabora grandes cantidades de IFNγ y anticuerpos IgG2a, mientras que, por el contrario, los ratones más susceptibles elaboran cantidades mínimas de IFNγ y favorecen las clases de anticuerpos IgG1, IgA e IgE. Es claro que la estrategia protectora varía de acuerdo con la infección.

Las estrategias evasivas del parásito

Resistencia a los mecanismos efectores

Son de interés algunos trucos para asegurar las defensas del complemento. *T. cruzi* creó elegantemente una molécula tipo DAF (véase pág. 349) que acelera la degradación del C3b. Las cercarias de *Schistosoma mansoni* activan el complemento en forma directa, pero expulsan el C3 unido al desprenderse de su glucocálix. La proteína PfEMP1 de *Plasmodium falciparum* está expresada en la superficie de los eritrocitos infectados y puede unirse al CR1 (CD35) en otro eritrocito infectado que condu-

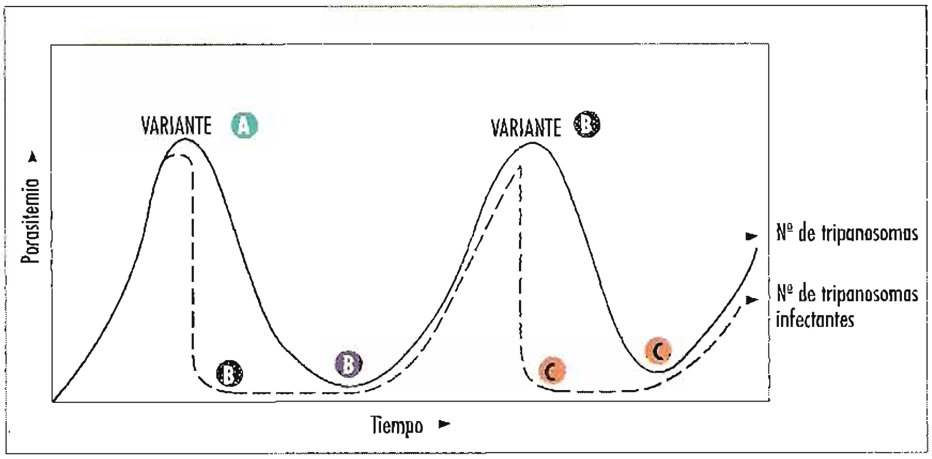


Fig. 13-25. Variación antigénica durante la infección crónica por tripanosoma. Cuando se forma el anticuerpo contra la variante inicial A, los tripanosomas sanguíneos forman complejos antes de la fagocitosis y no son más infectantes, aunque deja un número pequeño de parásitos viables que adquirieron una nueva constitución antigénica. Esta nueva variante (B) ahora se multiplica hasta que, también, es neutralizada por la respuesta primaria de anticuerpos y es sucedida por la variante C. En algún momento, sólo una de las variantes de las glucoproteínas de superficie (VSG) se expresa y cubre la superficie del protozoo para la exclusión de todos los otros antígenos. Casi el 9% del genoma (alrededor de 1.000 genes) está dedicado a la generación de VSG. Los cambios se producen por la inserción de un gen duplicado en una nueva ubicación genómica en la proximidad al promotor.

ce a la formación de rosetas que puede facilitar la diseminación del parásito con exposición mínima al sistema inmune del huésped. De un modo similar, los esporozoítos del paludismo se desprenden de su antígeno circumesporozoíto cuando se une al anticuerpo, y *Trypanosoma brucei* libera sus antígenos de superficie al medio para actuar como proteínas señuelo (pág. 288). En cada caso estos sistemas de desprendimiento y señuelo se adecuan bien a los parásitos o a los estadios en el ciclo vital del parásito, que sólo están en contacto con el sistema inmune por un período breve.

Ya mencionamos el modo por el cual los diferentes parásitos protozoos se ocultan de los efectos de los anticuerpos utilizando el interior de un macrófago como santuario. Para esto deben bloquear los mecanismos microbicidas normales y utilizan métodos similares a los desplegados por las bacterias intracelulares obligadas y facultativas (véase pág. 297). *Toxoplasma gondii* inhibe la fusión del fagosoma con el lisosoma al tapizar la mitocondria de la célula huésped a lo largo de la membrana del fagosoma. *Trypanosoma cruzi* escapa de los confines del fagosoma en el citoplasma, mientras que los parásitos *Leishmania* están rodeados por un lipofosfoglucano que los protege del estallido oxidativo, porque recoge los residuos de los radicales oxígeno. También regulan en menos la expresión de CMH y B7, lo que disminuye la estimulación de células T.

Cómo evitar el reconocimiento del antígeno por parte del huésped

Algunos parásitos **se disfrazan** para parecerse al huésped. Esto puede lograrse por imitación molecular, como puede demostrarse por la reactividad cruzada entre los antígenos de *Ascaris* y el colágeno del ser humano. Otra manera es cubrir la superficie con proteínas del huésped. Los esquistosomas son muy buenos en eso; el helminto capta las glucoproteínas del glóbulo rojo huésped, las moléculas del CMH y la IgG, y vive feliz en los vasos mesentéricos del huésped, a pesar de que la sangre que lo baña contiene anticuerpos que pueden impedir la reinfección.

Otra artimaña muy astuta, bastante semejante a lo que en el fútbol sería mover la posición de los arcos es la **variación antigénica**, en la que los parásitos escapan de la acción citocídica de los anticuerpos humorales en las formas sanguíneas de su ciclo por el ingenioso engaño de alterar su constitución antigénica. La figura 13-25 ilustra cómo el tripanosoma continúa para infectar al huésped, incluso después de la aparición de los anticuerpos completamente protectores, mediante el cambio para la expresión de una nueva variante antigénica que estos anticuerpos no pueden inactivar; a medida que se sintetizan los anticuerpos contra los nuevos antígenos, el parásito escapa de nuevo mediante una variante distinta y así sucesivamente. De esta manera, puede permanecer en el torrente sanguíneo el tiempo suficiente para permitir una oportunidad para la transmisión por insectos hematófagos o por transfusiones sanguíneas.

El mismo fenómeno se observó con las especies de *Plasmodium* y esto puede explicarse porque, en las áreas hiperendémicas, los niños están sujetos a ataques repetidos de paludismo durante sus primeros pocos años de vida y luego presentan una inmunidad sólida contra una infección posterior. Es probable que la inmunidad se desarrolle contra todas las variantes antigénicas antes de que se logre una protección completa y de hecho se sabe que la IgG de individuos con inmunidad sólida puede terminar de modo eficaz con las infecciones de paludismo en los niños pequeños.

Desviación de la respuesta inmune del huésped

En la mayoría de las infecciones estudiadas producidas por parásitos se encontró inmunosupresión. Durante la infección por tripanosomas, por ejemplo, los anticuerpos y la IMC son sólo del 5-10% de los valores normales, mientras que la actividad T supresora mediada por IL-10 e IFNγ es notable, tal vez relacionada con una carga excesiva de antígeno. *Schistosoma mansoni* posee un gen con homología para la proopiomelanocortina que, en los seres humanos, es una prohormona que se cliva para generar hormona adrenocorticotropina (ACTH), hormona estimuladora de melanocitos (NISH) y el opioide β-endorfina. Todos poseen propiedades inmunomoduladoras y la presencia de ACTH como de β-endorfina se demostró en cultivos cuando se incubaron helmintos adultos a 37ºC en un medio esencial mínimo; si se agregan neutrófilos al sistema, también se forma α-MSH, derivado a partir de la ACTH por la endopeptidasa neutra de la célula (CD10; CALLA, véase pág. 442).

Los parásitos también pueden manipular subpoblaciones de células T para su propio beneficio. La filariasis proporciona un ejemplo: se sugirió que los individuos con microfilarias persistentes fallan en montar respuestas de hipersensibilidad inmediata protectoras, como IgE y eosinofilia, como resultado de la supresión activa de células Th2.

Los estudios epidemiológicos concuerdan con un papel protector de los anticuerpos IgE en la esquistosomiasis, pero también revelan una población susceptible que produce anticuerpos IgM e IgG4 que pueden bloquear la CCDA dependiente de IgE. La capacidad de ciertos helmintos para activar de manera policlonal las células B productoras de IgE es buena para el parásito pero no tanto para el huésped, dado que una concentración elevada de IgE irrelevante unida a una célula cebada desplazará las moléculas de IgE específicas del parásito y disminuirá la posibilidad de estimular las células cebadas para iniciar una reacción defensiva protectora.

Encefalopatías espongiformes transmisibles

La enfermedad de Creutzfeldt-Jakob por nueva variante (nvCJD) se describió por primera vez en 1996 y, como scrapie de la oveja y encefalopatía espongiforme bovina (EEB), se clasifica como una encefalopatía espongiforme transmisible (EET) causada por priones. El papel del sistema inmune en las enfermedades por priones parece ayudar a la enfermedad más que combatirla. Estas infecciones conducen a formas de proteína del prion del huésped (PrP) plegadas de manera anormal y relativamente resistentes a las proteasas. La infectividad por lo común se replica a niveles elevados en los tejidos linfoides antes de diseminarse al sistema nervioso central, y hay evidencias para sugerir que las células dendríticas foliculares (en inglés, *f*ollicular *d*endritic *c*ell –FDC–) en bazo, ganglios linfáticos y placas de Peyer pueden estar involucradas en esta replicación. Esto puede deberse a que las FDC expresan de manera natural niveles elevados de PrP normal, que a continuación se convierte en anormal por la siguiente exposición al agente de la EET. Los linfocitos B pueden cumplir un papel subsidiario por la producción de linfotoxina, una citocina necesaria para el mantenimiento de un estado diferenciado en las FDC. Asimismo, además de las FDC, se propuso que los macrófagos son células responsables de proporcionar un depósito de infectividad.

Inmunopatología

Cuando los parásitos se tornan crónicos a pesar de una respuesta inmune, la interacción con el antígeno extraño con frecuencia produce reacciones tisulares perjudiciales. Un ejemplo es el síndrome nefrótico inducido por complejos inmunes de los niños de Nigeria asociados con el paludismo, que causa la fiebre cuartana. Los niveles aumentados de TNF son responsables de los cambios pulmonares en paludismo agudo, paludismo cerebral en los ratones y devastación severa del ganado con tripanosomiasis. Otro ejemplo es el daño hepático producido como consecuencia de la formación de granulomas mediada por IL-4 alrededor de los huevos de esquistosoma (véase fig. 16-28); uno de los antígenos del huevo induce la producción directa de IL-10 en las células B, lo que en consecuencia contribuye con el predominio de Th2. Es de destacar que la reacción de hipersensibilidad contribuye para que los huevos escapen desde los capilares sanguíneos intestinales hacia la luz intestinal para continuar el ciclo fuera del organismo huésped, un efecto mediado por TNFα.

La reacción cruzada entre el parásito y lo propio puede dar lugar a la autoinmunidad y esto se propuso como base para la miocardiopatía en la enfermedad de Chagas. También es pertinente que la inmunosupresión inespecífica que favorece las enfermedades parasitarias diseminadas tiende a aumentar la susceptibilidad a las infecciones bacterianas y virales y, en este contexto, la asociación entre el linfoma de Burkitt y el paludismo se atribuyó a una respuesta inadecuada del huésped al virus de Epstein-Barr.

RESUMEN

La inmunidad a la infección comprende una batalla constante entre las defensas del huésped y los microorganismos mutantes que tratan de desarrollar estrategias evasivas.

Revisión de la inflamación

- La inflamación es una reacción defensiva fundamental iniciada por la infección o por la lesión tisular.
- Los mediadores liberados regulan en más las moléculas de adhesión en las células endoteliales y los leucocitos, que apareados producen primero el rodamiento de los leucocitos a lo largo de la pared endotelial para luego pasar a través del vaso sanguíneo a favor del gradiente quimiotáctico hacia el sitio de inflamación.
- La IL-1, el TNF y las quimiocinas, como IL-8, están involucradas en el mantenimiento del proceso inflamatorio.
- La inflamación es controlada por las proteínas reguladoras del complemento, PGE_2, TGFβ, glucocorticoides e IL-10.
- El LPS está unido por LBP, que transfiere el LPS al complejo CD14-TLR4, lo que en consecuencia activa los genes en la CPA que codifica las moléculas proinflamatorias.
- La incapacidad de eliminar el agente iniciador conduce a una respuesta inflamatoria crónica dominada por macrófagos que a menudo forman granulomas.

Bacterias extracelulares susceptibles de ser destruidas por fagocitosis y complemento

- Las bacterias intentan evitar la fagocitosis, para ello se rodean con cápsulas, por medio de la secreción de exotoxinas que destruyen los fagocitos, o impiden las reacciones inflamatorias, desvían el complemento a sitios inofensivos o colonizan sitios relativamente inaccesibles.
- Los anticuerpos combaten estos trucos mediante la neutralización de las toxinas, al hacer que el depósito del complemento sea más parejo en la superficie bacteriana y vencer la naturaleza antifagocítica de las cápsulas mediante la opsonización con Ig y C3b.
- El sistema inmune secretor protege las superficies mucosas externas. La IgA inhibe la adherencia de las bacterias y puede opsonizarlas. La IgE unida a las células cebadas puede iniciar el influjo de IgG protectora, complemento y polimorfonucleares por una respuesta inflamatoria aguda en miniatura.

Bacterias que se desarrollan en un hábitat intracelular

- Las bacterias intracelulares, como los bacilos de la tuberculosis y de la lepra, crecen dentro de los macrófagos. Desafían los mecanismos de destrucción mediante el bloqueo de la activación del macrófago, por la eliminación de los residuos de radicales de oxígeno, por la inhibición de la fusión del lisosoma, por poseer cubiertas externas resistentes y por el escape desde el fagosoma hasta el interior del citoplasma.
- Son destruidas por la IMC: las células T helper sensibilizadas de manera específica liberan citocinas cuando entran en contacto con los macrófagos infectados que activan de manera poderosa la formación de óxido nítrico (NO·), intermediarios reactivos del oxígeno (ROI) y otros mecanismos microbicidas.

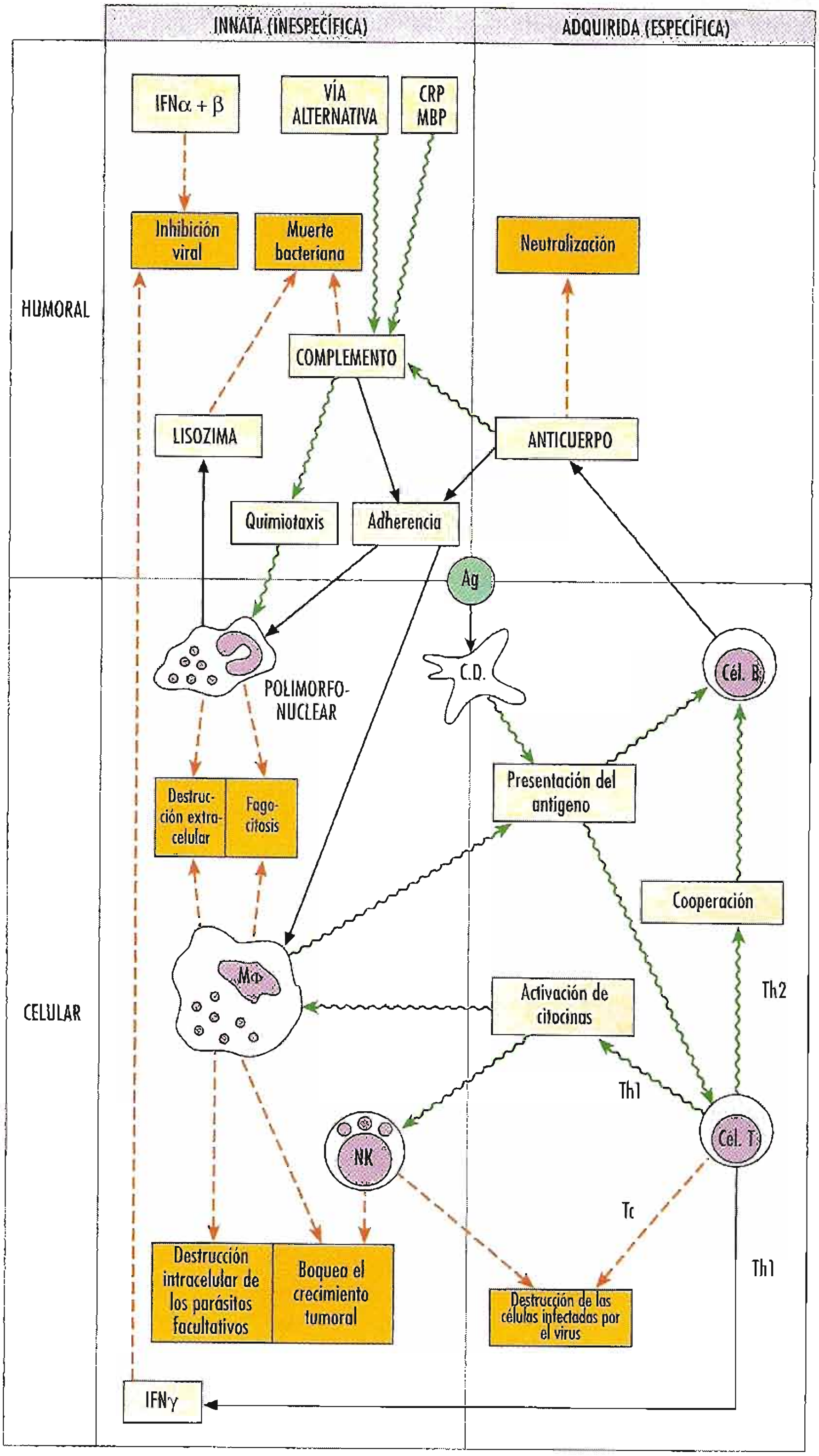

INNATA (INESPECÍFICA)
ADQUIRIDA (ESPECÍFICA)
HUMORAL
CELULAR
IFNα + β
VÍA ALTERNATIVA
CRP MBP
Inhibición viral
Muerte bacteriana
Neutralización
COMPLEMENTO
LISOZIMA
ANTICUERPO
Quimiotaxis
Adherencia
Ag
POLIMORFONUCLEAR
C.D.
Cél. B
Presentación del antígeno
Destrucción extracelular
Fagocitosis
Cooperación
Mφ
Activación de citocinas
Th2
Th1
NK
Cél. T
Tc
Destrucción intracelular de los parásitos facultativos
Boquea el crecimiento tumoral
Destrucción de las células infectadas por el virus
Th1
IFNγ

Fig. 13-26. Esquema simplificado para recalcar las interacciones entre los mecanismos de inmunidad innatos y adquiridos. La célula dendrítica que presenta el antígeno a las células B en la forma de complejos inmunes es la célula dendrítica folicular en los centros germinales, mientras que la célula dendrítica interdigitante positiva para moléculas clase II del CMH presenta el antígeno a las células T. (Desarrollado a partir de Playfair JHL [1974] *British Medical Bulletin* 30, 24.)

Inmunidad contra la infección viral

- Los virus intentan eludir el sistema inmune mediante cambios en la antigenicidad de sus antígenos de superficie. Las mutaciones puntuales provocan cambios menores (desplazamiento antigénico), si bien los cambios radicales que conducen a endemias pueden ser resultado del intercambio en grande de material genético con reservorios de diferentes virus en otros huéspedes animales (variación antigénica).
- Algunos virus alteran la función del sistema del complemento para su propio beneficio.

- Los anticuerpos neutralizan el virus libre y ser en particular eficaces cuando el virus tiene que viajar a través del torrente sanguíneo antes de alcanzar su blanco final.
- Cuando el blanco es el mismo que la puerta de entrada, por ejemplo, los pulmones, el IFN es dominante en la recuperación de la infección.
- Los anticuerpos son importantes para prevenir las reinfecciones.
- Los virus "en gemación" que pueden invadir células adyacentes sin exponerse a los anticuerpos son combatidos por la IMC. Las células infectadas expresan un péptido viral antigénico procesado en su superficie en asociación con las moléculas clase I del CMH enseguida después de la entrada del virus, y la destrucción rápida de la célula por las células T citotóxicas αβ previene la multiplicación viral, que depende de la maquinaria replicativa de la célula huésped intacta. La célula Tc γδ reconoce la proteína de cubierta viral nativa en la superficie de la célula blanco. Las células NK también son citotóxicas.
- Las células T y macrófagos productores de IFNγ y TNF bañan las células contiguas y las previenen de tornarse infectadas por diseminación lateral del virus.

Inmunidad contra las infecciones parasitarias

- Las enfermedades que involucran parásitos *protozoos* y *helmintos* afectan cientos de millones de personas. Los anticuerpos por lo común son eficaces contra las formas transportadas por la sangre. La producción de IgE presenta un aumento notorio en las infestaciones por helmintos y puede conducir al influjo de Ig y eosinófilos mediado por los mastocitos; los esquistosomas recubiertos con IgG o IgE son destruidos por eosinófilos adherentes mediante mecanismos extracelulares que comprende la liberación de proteínas catiónicas y peroxidasa.
- Los microorganismos como las especies de *Leishmania*, *Trypanosoma cruzi* y *Toxoplasma gondii* se ocultan de los anticuerpos dentro de los macrófagos, utilizan las mismas estrategias que las bacterias parasitarias intracelulares para sobrevivir y, como ellas, son destruidos cuando los macrófagos se activan por las citocinas producidas por Th1 durante las respuestas inmunes mediadas por células. El NO· es un importante agente destructor.
- Las células CD8 también desempeñan un papel protector.
- Por lo común, la expulsión de los helmintos intestinales depende en gran parte de las respuestas Th2 y requiere la acción coordinada de anticuerpos, liberación de mucina por las células caliciformes estimuladas por citocinas y la producción de ondas peristálticas intestinales y diarrea por los mediadores de los mastocitos.
- Algunos parásitos evitan el reconocimiento disfrazándose como si fueran el huésped, mediante un mimetismo molecular o por la absorción de proteínas del huésped a su superficie.
- Otros microorganismos como el *Trypanosoma brucei* y las diferentes especies productoras de paludismo tienen la extraordinaria capacidad de cubrir su superficie con un antígeno dominante que varía por mecanismos de cambios genéticos en una molécula diferente a medida que se forman anticuerpos contra la primera variante.
- La mayoría de los parásitos también tiende a producir supresión inespecífica de las respuestas del huésped.
- La persistencia crónica de antígeno del parásito ante una respuesta inmune produce a menudo reacciones inmunopatológicas que causan daño tisular, como en el caso del síndrome nefrótico por complejos inmunes, granulomas hepáticos y lesiones autoinmunes cardíacas. La inmunosupresión generalizada aumenta la susceptibilidad a las infecciones bacterianas y virales.
- A medida que se analizan las características de la respuesta contra la infección, comprendemos con más claridad la manera de actuar de la respuesta adquirida específica para amplificar y reforzar los mecanismos inmunes innatos; las interacciones se resumen en la figura 13-26.

Enfermedades por priones

- El scrapie, BSE y nvCJD son encefalopatías espongiformes transmisibles causadas por priones.
- La proteína del prion (PrP) del huésped desarrolla formas plegadas anormalmente resistentes a la proteasa.
- Las FDC se infectan en los tejidos linfoides antes de la diseminación del agente infeccioso hacia el sistema nervioso central.

Véanse preguntas de opciones múltiples en el sitio web correspondiente (www.roitt.com).

CAPÍTULO 14

Profilaxis

www.el12cirujano.blogspot.com/

Introducción, 319
Inmunidad adquirida en forma pasiva, 319
  Anticuerpos maternos adquiridos, 319
  Mezcla de γ globulina humana, 321
  Anticuerpos de cultivo producidos según demanda, 322
  Transferencia adoptiva de células T citotóxicas, 322
Vacunación, 322
  Inmunidad comunitaria, 322
  Consideraciones estratégicas, 323
Microorganismos muertos como vacunas, 323
Los microorganismos vivos atenuados tienen muchas ventajas como vacunas, 324
  Métodos clásicos de atenuación, 325
  Atenuación por tecnología de DNA recombinante, 325
  Vectores microbianos para otros genes, 325
  Limitaciones en el uso de vacunas atenuadas, 327
  Uso en un contexto veterinario, 327
Vacunas de subunidades con antígenos protectores individuales, 327
  Uso de componentes purificados, 328
  Los antígenos se pueden sintetizar mediante la clonación genética, 328
  El gen desnudo actúa por sí mismo como vacuna, 329
Pueden necesitarse vacunas con epítopos específicos, 331
  Los epítopos pueden ser imitados por péptidos sintéticos, 332
  Los antiidiotipos pueden aprovecharse como vacunas con epítopos específicos, 334
  Los mutantes que perdieron epítopos no deseados pueden plegar en forma correcta epítopos discontinuos para células B deseados, 336
Vacunas actuales, 336
Vacunas experimentales en desarrollo, 338
  Paludismo, 338
  Esquistosomiasis, 340
  Cólera, 340
  Tuberculosis, 340
Adyuvantes, 340
  Efectos de depósito, 341
  Activación de células presentadoras de antígeno, 341
  Efectos sobre los linfocitos, 341
  Nuevos enfoques sobre la presentación del antígeno, 343
Resumen, 344
Lecturas adicionales, 346

INTRODUCCIÓN

El control de las infecciones puede abordarse desde varias direcciones. En Gran Bretaña se logró un método para cortar la cadena de la infección por rabia y psitacosis mediante el control de la importación de perros y loros, respectivamente. Las mejoras en la salud pública –suministro de agua potable, sistemas cloacales, educación sobre la higiene personal– previenen la diseminación del cólera y muchas otras enfermedades, y, por supuesto, cuando otras medidas fracasan podemos recurrir a la inducción de la inmunidad (hito 14-1).

INMUNIDAD ADQUIRIDA EN FORMA PASIVA

La protección temporaria contra la infección puede establecerse mediante la administración de anticuerpos preformados de otro individuo de la misma especie o de otra (cuadro 14-1, fig. 14-1). Esta protección se pierde en forma gradual a medida que los anticuerpos adquiridos se utilizan para combinarse con el antígeno o son catabolizados por la vía normal.

Las globulinas de caballo que contienen antitoxinas tetánica y diftérica fueron utilizadas ampliamente en la profilaxis, pero en el momento actual la práctica está más restringida a causa de su complicación: la enfermedad del suero, que se produce en respuesta a la proteína extraña. Es más probable que esto suceda en sujetos ya sensibilizados por contacto previo con la globulina de caballo; de este modo a aquellos que han recibido el suero antitetánico de caballo (p. ej., para una protección inmediata de heridas abiertas) se les aconseja una inmunización activa posterior para evitar la necesidad de inyecciones adicionales de suero de caballo en caso de una nueva emergencia.

Anticuerpos maternos adquiridos

Durante los primeros meses de vida, cuando el sistema linfoide del recién nacido se está desarrollando en forma lenta, la protección está a cargo de los anticuerpos IgG derivados de la madre, adquiridos por transferencia placentaria y por absorción intestinal de las inmunoglobulinas del calostro (fig.

Hito 14-1. Vacunación

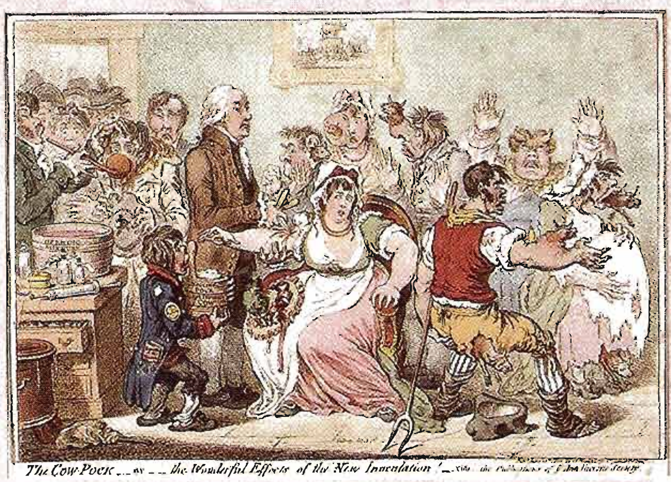

The Cow-Pock __ or __ the Wonderful Effects of the New Inoculation! __

Fig. H14-1-1. Edward Jenner entre sus pacientes, en el Small Pox and Inoculation Hospital en St Pancras. Grabado de J. Gillray, 1802 (gentileza del Wellcome Centre Medical Photographic Library, Londres).

La noción de que los sobrevivientes de enfermedades infecciosas graves rara vez contraen de nuevo la infección ha permanecido arraigada en la tradición popular durante siglos. Tucídides al tomar en cuenta la terrible peste que azotó Atenas, observó que en principio aquellos que atendían a los enfermos eran individuos que ya se habían infectado y se recuperaban de la peste. En China, durante la Edad Media eran comunes los intentos deliberados de controlar las infecciones mediante la inducción de formas menores de la enfermedad en sujetos por otra parte sanos. Allí desarrollaron la práctica de inhalar un polvo elaborado con costras de la **viruela** como protección contra cualquier infección futura. Los indios inoculaban material proveniente de las costras en pequeñas laceraciones de la piel; esta práctica de **viruelización** (del latín *varus*, una enfermedad facial pustulosa) se introdujo en Turquía, donde los habitantes de Circasia estaban decididos a prevenir los estragos de la epidemia de viruela que interfería en el lucrativo negocio de la venta de sus vistosas hijas para los harenes de los ricos.

Voltaire, en 1773, nos dice que el mérito por la difusión de la práctica de la viruelización a la Europa Occidental debería atribuirse a Lady Wortley Montague, una mujer muy emprendedora esposa del embajador inglés en Constantinopla durante el reinado de Jorge I. Con pocos escrúpulos, ella inoculó viruela en su propia hija, ante las protestas de su capellán quién pensaba que el procedimiento sólo podría ser exitoso con los infieles, no con los cristianos. De todos modos, todo resultó bien y la práctica fue adoptada en Inglaterra a pesar de la peligrosa naturaleza del procedimiento, que exhibía una mortalidad del 0,5-2% de los casos. Se tomaban estos riesgos terribles porque en esa época, como registró Voltaire, "... sesenta personas de cada cien adquirían la viruela. De éstas, veinte mueren por la enfermedad en la mejor etapa de su vida y muchas más padecen las desagradables cicatrices en sus caras por el resto de su vida".

Edward Jenner (1749-1823), un médico de campo en Gloucestershire, le sugirió a una de sus pacientes que podía tener viruela, pero ella le aseguró que eso era imposible porque ya había contraído la viruela vacuna durante sus tareas como ordeñadora (¡otra vez la tradición popular!). Esto condujo a Jenner a realizar una serie de experimentos en los que demostró que la inoculación previa con la viruela vacuna, que era avirulenta (o sea no patógena) en el ser humano, protegía contra la exposición subsiguiente a la viruela humana (véase pág. 33). Sus ideas encontraron al comienzo una oposición violenta pero por fin fueron aceptadas y adquirió fama mundial; las sociedades científicas de todas partes lo eligieron miembro, aunque llama la atención que el Colegio de Médicos de Londres le obligara a aprobar un examen sobre los clásicos y que la Sociedad Real lo convirtiera en miembro por su trabajo acerca del comportamiento nidatorio del pájaro cuclillo. Al final él inoculó miles de personas en el cobertizo del jardín de su casa en Berkeley, Gloucestershire, que ahora funciona como museo y sede de pequeñas reuniones científicas de la British Society for Immunology (un sitio bastante divertido para visitar si usted tiene la oportunidad).

El siguiente progreso en el desarrollo de vacunas se produjo por la labor de investigación de Louis Pasteur, quien había desarrollado la teoría de los gérmenes como los agentes causantes de la enfermedad. Un cultivo del bacilo del cólera aviario, que había sido dejado por accidente en un escritorio durante los calurosos meses del verano, perdió mucho de su capacidad para producir enfermedad; no obstante, las aves que habían sido inoculadas con ese cultivo viejo adquirieron resistencia frente a cultivos frescos del bacilo virulento. Esta **atenuación** de microorganismos **virulentos** fue reproducida por Pasteur en los casos del carbunco y la rabia, mediante el uso de cultivos y condiciones de pasaje anormales. Al reconocer la relevancia de las investigaciones de Jenner para sus propios experimentos, Pasteur denominó a su tratamiento **vacunación**, un término que ha soportado la prueba del tiempo.

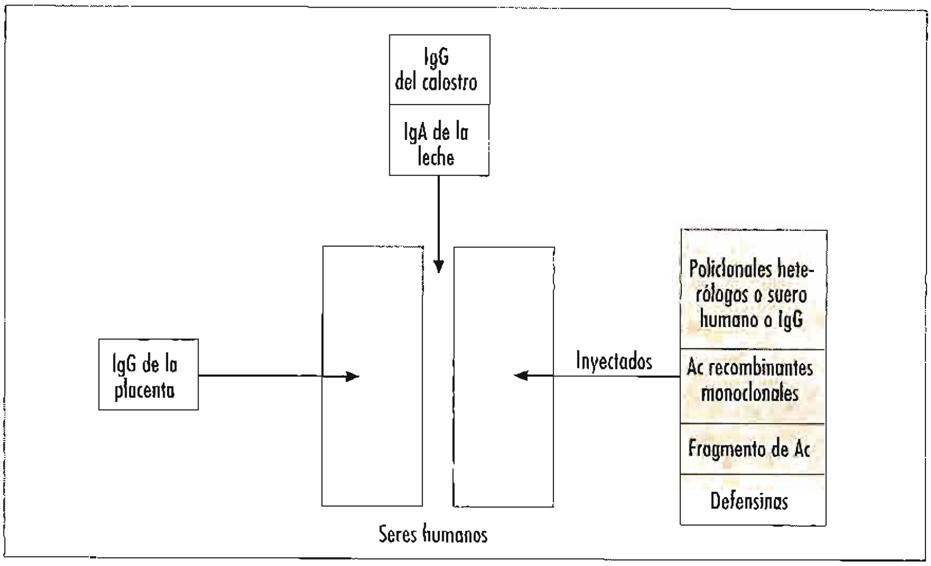


Fig. 14-1. Inmunización pasiva producida por: el pasaje transplacentario de la IgG materna al feto, la adquisición de la IgA del calostro y leche maternos por el niño y la inyección de anticuerpos policlonales, anticuerpos recombinantes monoclonales expresados en procariotes o plantas, fragmentos de anticuerpos (Fab o scFV) derivados de bibliotecas de fagos y, en el futuro, defensinas polimorfas sintéticas.

Cuadro14-1. *Inmunoterapia pasiva con anticuerpos*

INFECCIÓN	FUENTE DE ANTICUERPOS		USO
	CABALLO	SER HUMANO	
Tétanos Difteria	✓	✓	Profilaxis Tratamiento
Botulismo Gangrena gaseosa Picadura de serpiente o escorpión	✓	–	Tratamiento
Varicela zoster	–	✓	Tratamiento de la inmunodeficiencia
Rabia	–	✓	Exposición posterior a la vacuna
Hepatitis B	–	✓	Tratamiento
Hepatitis A	–	✓	Profilaxis (viajes)
Sarampión	–	✓	Tratamiento
Citomegalovirus	–	✓	Profilaxis en pacientes inmunosuprimidos

14-1). La IgA secretora es la principal inmunoglobulina de la leche, y no es absorbida por el niño pero permanece en el intestino para proteger la superficie de la mucosa. En este aspecto es bastante llamativo el hecho de que los anticuerpos IgA estén dirigidos contra antígenos bacterianos y virales a menudo presentes en el intestino; se presume que las células productoras de IgA que responden a antígenos intestinales, migran y colonizan el tejido mamario (como parte del sistema inmune MALT; véase pág. 171), donde producen los anticuerpos que aparecen en la leche. Es ineludible la vacunación de mucosas contra infecciones seleccionadas en las futuras madres.

Mezcla de γ-globulina humana

La inyección en forma regular de una mezcla de γ-globulina humana de adultos constituye un tratamiento fundamental en los pacientes con inmunodeficiencias de larga data. Las preparaciones son valiosas también para modificar los efectos del sarampión y la varicela en otros individuos con respuestas inmunitarias defectuosas, como las de lactantes pretérmino, niños con desnutrición proteica o pacientes en tratamiento con esteroides. Los contactos con enfermos de hepatitis infecciosa pueden ser protegidos con γ-globulina. La inmunoglobulina antitetánica humana es preferible al suero antitoxina de caballo, el que puede causar reacciones de hipersensibilidad. De manera curiosa, la mezcla de γ-globulina se está utilizando cada vez más como tratamiento de enfermedades autoinmunes como la púrpura trombocitopénica idiopática, quizá por actuar a través de mecanismos antiidiotípicos.

Las preparaciones de γ-globulina aislada tienden a formar pequeños agregados en forma espontánea, los que pueden producir reacciones anafilácticas graves cuando se los administra por vía intravenosa, debido a su capacidad para agregar plaquetas, activar el complemento y generar las anafilotoxinas C3a y C5a. Por esta razón, el producto siempre se inyecta por vía intramuscular. Se dispone de preparaciones libres de agregados y serían bienvenidos lotes separados con altos títulos de anticuerpos contra microorganismos seleccionados, como el virus de la vacuna, herpes zoster, tétanos y tal vez rubéola. Esta necesidad podrá ser satisfecha tan pronto como sea posible producir anticuerpos monoclonales humanos según demanda.

Anticuerpos de cultivo producidos según demanda

Las técnicas para producir anticuerpos monoclonales *humanos* contra especificidades predeterminadas de células de hibridoma (véase pág. 135) todavía dejan algo que desear y se recurre sin descanso a la tecnología de DNA recombinante para satisfacer las necesidades (fig. 14-1). Existen distintas propuestas para la producción de anticuerpos que no dependen del sistema inmune humano, como los compuestos de fracción Fab y Fv monocatenaria (V_H-V_L) (véase pág. 137) seleccionados de una biblioteca de fagos. Los anticuerpos de dominio simple V_H, como son tan pequeños, bien pueden ser capaces de alcanzar los receptores celulares sobre los virus que son ocultados en la profundidad de la hendidura proteica, que podría ser inaccesible para el sector Fv de un anticuerpo intacto, aunque la adhesividad natural de estos dominios V_H debe ser determinada. Algunos anticuerpos poseen actividad de peptidasa, en particula cuando las cadenas livianas son homólogas a las proteasas séricas, y esto podría aumentar la degradación del antígeno. La expresión de **genes de anticuerpos en plantas** va a representar una gran empresa; en la actualidad la tecnología está en condiciones de producir anticuerpos IgA recombinantes acoplados a piezas secretoras en plantas; éstos constituirían un suplemento invalorable para la leche de vaca en polvo como alimento de lactantes en los casos en que la leche materna sea de baja calidad.

Nunca hay que desdeñar los mecanismos de la inmunidad innata. Las defensinas, los péptidos antimicrobianos de amplio espectro, presentes en los gránulos de los neutrófilos polimorfonucleares (PMN) (véase pág. 9), en la actualidad se están desarrollando por ingeniería en plantas de tabaco y se planea utilizarlos en infecciones micóticas y bacterianas refractarias a los antibióticos convencionales. Un buen ejemplo de razonamiento deductivo colateral por parte de los líderes del proyecto.

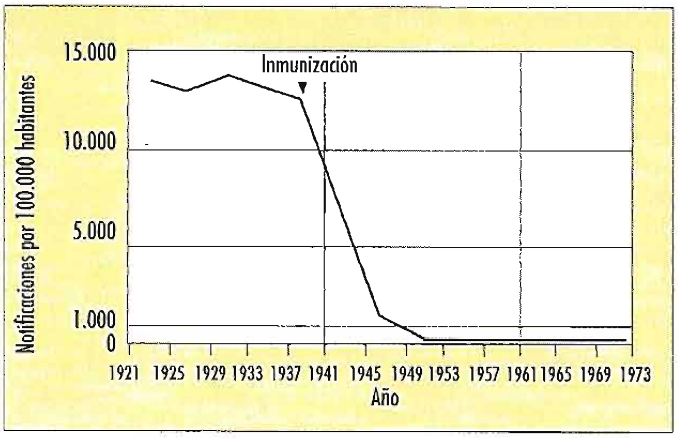


Fig. 14-2. Notificación de la difteria en Inglaterra y Gales por cada 100.000 habitantes, en donde se observa una disminución espectacular de los casos tras la inmunización (de Dick G [1978] *Immunisation*. Update Books; reproducido con autorización del autor y de la editorial).

Transferencia adoptiva de células T citotóxicas

Esta es una operación muy laboriosa y estará restringida a los casos en los que el donante comparte un alelo del CMH clase I. Para dar un ejemplo, hasta en un 30% de los receptores de aloinjertos de médula ósea de familiares incompatibles o de donantes compatibles no emparentados se desarrollan linfomas por virus de Epstein-Barr (EBV). Los estudios piloto cuyo objetivo fue la profilaxis potencial demostraron que las líneas de células T citotóxicas (Tc) inducidas por EBV, transferidas a los receptores de la médula ósea, reconstituyeron las respuestas inmunes de los pacientes contra el EBV durante un período de por lo menos 18 meses.

VACUNACIÓN

Inmunidad comunitaria

En el caso del tétanos, la inmunización activa es beneficiosa para el individuo pero no para la comunidad, ya que no elimina el microorganismo, que se encuentra en las heces de los animales domésticos y persiste en el suelo en la forma de esporas muy resistentes. Cuando la enfermedad depende de la transmisión humana, establecer la inmunidad en sólo una pequeña parte de la población puede ayudar a toda la comunidad si conduce a una disminución de la tasa de reproducción (cantidad de

Cuadro14-2. *Factores necesarios para una vacuna exitosa*

FACTOR	REQUERIMIENTOS
Eficacia	Deben producir niveles de inmunidad protectores en el sitio adecuado de naturaleza relevante (Ac,Tc,Th1,Th2) de duración adecuada
Disponibilidad	Fácil de cultivar en grandes volúmenes o que la fuente de las subunidades sea accesible
Estabilidad	Estable bajo condiciones climáticas extremas; preferentemente que no requiera refrigeración
Bajo costo	Lo que es económico en Occidente puede ser costoso en los países en desarrollo, aunque la OMS y otros tratan de ayudar
Seguridad	Eliminación de toda patogenicidad

casos adicionales que produce cada individuo infectado) a menos de uno. Bajo estas circunstancias la enfermedad se extinguirá; lo atestigua, por ejemplo, la desaparición de la difteria en comunidades en las que el 75% de los niños había sido inmunizado (fig. 14-2). Pero esta tasa debe mantenerse; no hay lugar para complacencias. En contraste, aparecieron brotes epidémicos de sarampión en comunidades que objetan la inmunización por criterios religiosos, lo cual es un tema opinable para los padres en general. Cada individuo debe cotejar cualquier desventaja posible de la vacunación en relación con el riesgo aumentado de enfermedad en el niño no inmunizado.

Consideraciones estratégicas

El objetivo de la vacunación es proporcionar una inmunidad efectiva, al establecer niveles adecuados de anticuerpos y generar una población programada de células de memoria capaces de expandirse con rapidez ante un nuevo contacto con el antígeno y de este modo proteger contra la infección. A veces, como en la infección por el virus de la polio, se requiere un alto título de anticuerpos; en las enfermedades por micobacterias, como la tuberculosis (TB), la más efectiva es la inmunidad mediada por células (IMC) activada por los macrófagos, mientras que en la infección por el virus influenza es más probable que las células T citotóxicas desempeñan un papel significativo. El sitio de la respuesta inmune desencadenada por la vacunación también puede ser de gran importancia. Por ejemplo, en el cólera los anticuerpos deben estar en la luz intestinal, para inhibir la adherencia a la pared del intestino y evitar su colonización.

La erradicación del agente infeccioso no siempre es el objetivo más práctico. Si tomamos como ejemplo el paludismo, la forma hemática libera moléculas que inducen la producción del factor de necrosis tumoral (TNF) y otras citocinas por los monocitos, cuya secreción es la responsable de los efectos desagradables de la enfermedad. En concordancia, una respuesta de anticuerpos dirigida contra estos antígenos liberados que conservan la estructura de los epítopos sería una estrategia realista de mantenimiento, mientras aún está pendiente la búsqueda de una vacuna completa dirigida contra un parásito evasivo, que cambia sus antígenos de manera continua. En estas circunstancias, la vida con el parásito podría ser aceptable.

Además de la capacidad para producir una inmunidad efectiva, un número de condiciones triviales pero no obstante cruciales deben ser satisfechas para que la vacuna sea considerada exitosa (cuadro 14-2). Los antígenos tienen que ser fáciles de obtener y la preparación, estable, económica y por cierto segura, teniendo en cuenta que los receptores son niños sanos en su mayoría. Es obvio que el primer contacto con el antígeno durante la vacunación no debe ser nocivo; el objetivo es evitar los efectos patógenos de la infección mientras mantiene los inmunógenos protectores.

MICROORGANISMOS MUERTOS COMO VACUNAS

La manera más sencilla de anular la capacidad de los microorganismos para causar enfermedad, pero manteniendo su constitución antigénica, es impedir su replicación al destruirlos en forma apropiada. Los helmintos, y en menor grado los protozoos tienen gran dificultad para desarrollar en grandes volúmenes como para elaborar vacunas con agentes muertos. Este problema no se manifiesta con algunos virus y bacterias; en estos casos los microorganismos inactivados han generado antígenos seguros para la inmunización. Son ejemplos las vacunas contra la fiebre tifoidea (que se combina con el relativamente ineficaz antígeno paratifoideo A y B), la vacuna contra el cólera y contra la poliomielitis con virus muertos (Salk). El éxito de la vacuna Salk estuvo levemente opacado debido a un pequeño aumento en la incidencia de muertes por poliomielitis en 1960-61 (fig. 14-3), pero ahora se

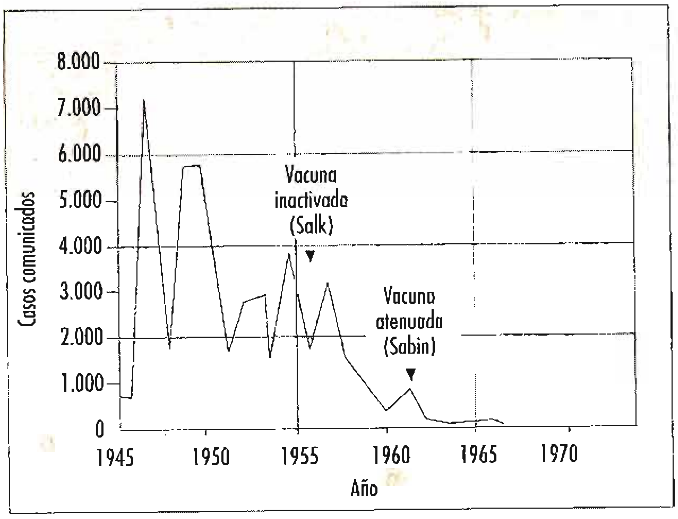


Fig. 14-3. Notificación de la poliomielitis (parálisis infantil) en Inglaterra y Gales en donde se observan los efectos beneficiosos de la inmunización masiva con vacunas de virus vivos y muertos (de Dick G [1978] *Immunisation*. Update Books; reproducido con permiso del autor y de la editorial).

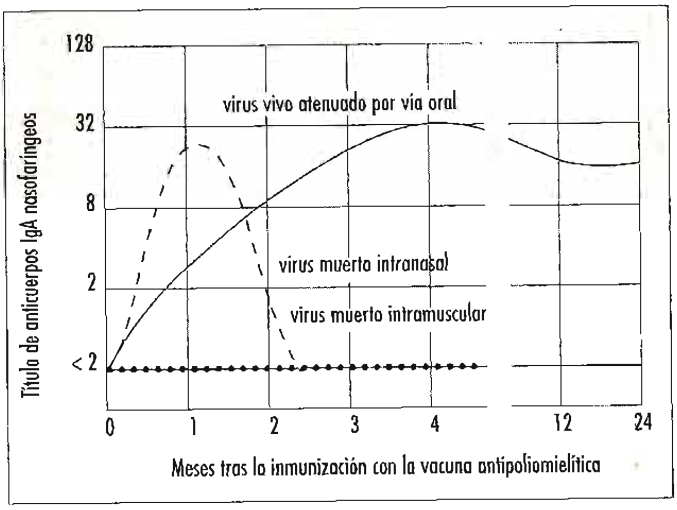


Fig. 14-4. Respuesta de la IgA local ante la vacuna antipoliomielítica. La síntesis local de anticuerpos secretores está confinada en sitios anatómicos específicos, que se han estimulado en forma directa mediante el contacto con el antígeno. (Datos de Ogra PL et al. [1975] En: Nothkins AL [ed] Viral *Immunology and Immunopathology*, pág. 67. Academic Press, Nueva York.)

atribuye a la escasa antigenicidad de una de las tres cepas diferentes del virus utilizados; en el presente las vacunas son mucho más potentes. Hay que tener cuidado en asegurarse que los antígenos protectores no sean destruidos en el proceso de inactivación. Durante la producción de una de las primeras vacunas contra el sarampión con virus muertos se inactivó el antígeno de fusión, que permite la diseminación celular del virus; en consecuencia, se produjo una inmunización incompleta que dejó al individuo susceptible y en condiciones de desarrollar complicaciones inmunopatológicas, al exponerse otra vez a la infección natural. Los peligros de una inmunidad incompleta son preocupantes en especial en aquellas regiones donde el sarampión es endémico y la respuesta inmune está relativamente debilitada debido a la desnutrición proteica. Ya que es improbable la corrección global de esta deficiencia nutricional en un futuro próximo, vale la pena considerar como solución factible la estimulación inespecífica con fármacos potenciadores de la inmunidad u hormonas tímicas en el momento de la vacunación.

LOS MICROORGANISMOS VIVOS ATENUADOS TIENEN MUCHAS VENTAJAS COMO VACUNAS

El objetivo de la atenuación es producir un microorganismo modificado que imite el comportamiento natural del microorganismo original sin causar una enfermedad significativa. En muchos casos la inmunidad otorgada por las vacunas con microorganismos muertos, aun administradas con adyuvantes (véase más adelante), suele ser menor que la resultante de la infección por microorganismos vivos. Esto puede deberse, en parte, a que la replicación de los microorganismos vivos confronta al huésped con una **dosis mayor y más sostenida de antígeno**, y porque en el caso de virus brotantes se requieren células infectadas para establecer una buena **memoria de células T citotóxicas**. Otra ventaja significativa de usar microorganismos vivos es que la **respuesta inmune tiene lugar, en su mayor parte, en el sitio de la infección natural**. Esto queda bien ilustrado por la respuesta nasofaríngea de IgA frente a la inmunización con la vacuna antipoliomielítica. En contraste con la inefectividad de la inyección parenteral de la vacuna con virus muertos, la administración intranasal despierta una buena respuesta local de anticuerpos; sin embargo, mientras ésta declina en un período de dos meses o más, la inmunización vía oral por virus *vivos atenuados* indujo niveles persistentemente elevados de anticuerpos IgA (fig. 14-4).

En realidad hay un fuerte resurgimiento del interés por estrategias de inmunización a través de las mucosas. Debe recordarse que el sistema MALT involucra las membranas mucosas que recubren el tracto aerodigestivo y urogenital, así como la conjuntiva, el oído y los conductos de todas las glándulas exocrinas que son protegidos esencialmente por anticuerpos sIgA. Las células T residentes en estos tejidos producen grandes cantidades de factor de crecimiento en fransformación β (TGFβ) y de interleucinas 10 y 4 (IL-10 e IL-4), que promueven el cambio de la célula B hacia la síntesis de IgA; adviértase también que las células del epitelio intestinal humano son por sí mismas las principales fuentes de TGFβ e IL-10.

Métodos clásicos de atenuación

El objetivo de la atenuación, o sea producir un microorganismo que sólo causa una forma muy leve de la enfermedad natural, puede ser igualmente alcanzado si se identifican cepas heterólogas virulentas para otra especie, pero avirulentas en los seres humanos. El mejor ejemplo de esto fue la señera demostración de Jenner de que la viruela bovina podría proteger contra la viruela humana. Desde entonces, un verdadero y extraordinario esfuerzo mancomunado de la Organización Mundial de la Salud (OMS), que combina extensas campañas de vacunación con métodos selectivos de control epidemiológico, **erradicó por completo la enfermedad humana**, un logro maravilloso. Animada por este éxito, la OMS emprende un programa para la erradicación de la polio y, a pesar de los contratiempos causados por los conflictos armados que limitan el acceso a poblaciones locales, para el 2005 se espera declarar al mundo libre de polio. Se puede seguir el progreso de esta campaña en la web:http://www-.polioeradication.org.

La atenuación originalmente se logró mediante la modificación empírica de las condiciones de desarrollo de un microorganismo. Pasteur consiguió por primera vez la producción de formas vivas no virulentas del bacilo del cólera aviario y del carbunco (véase hito 14-1), mediante ciertos artificios como el cultivo a altas temperaturas y en condiciones de anaerobiosis, cuya infección con estos microorganismos es capaz de conferir inmunidad. Una cepa virulenta de *Mycobacterium tuberculosis* resultó atenuada por casualidad en 1908, cuando Calmette y Guérin en el Instituto Pasteur, Lille, agregaron bilis al medio de cultivo en un intento de dispersar el crecimiento. Luego de 13 años de cultivos en medios con bilis, la cepa permaneció atenuada y fue utilizada con éxito para vacunar niños contra la tuberculosis. El mismo microorganismo, BCG (bacilo de Calmette-Guérin) es utilizado hoy ampliamente para la inmunización de individuos tuberculina-negativos. La atenuación del virus influenza y otros virus respiratorios mediante crioadaptación parece prometedora; el microorganismo puede proliferar en las bajas temperaturas (32º a 34°C) del tracto respiratorio superior, pero no puede producir enfermedad clínica en el tracto respiratorio inferior (37°C) por su incapacidad para replicarse.

Atenuación por tecnología de DNA recombinante

Muchos de los métodos clásicos de atenuación son algo empíricos y el resultado es difícil de controlar o predecir. Con el conocimiento de la caracterización genética de estos microorganismos, podemos aplicar el delicado escalpelo del biólogo molecular para apuntar en forma deliberada a las alteraciones del estilo de vida que se necesita para una atenuación exitosa. La recombinación genética se está utilizando para desarrollar varias cepas de virus atenuados, como el virus influenza, con baja virulencia en seres humanos y algunos con una mayor rapidez de multiplicación en huevos (que permite adaptar las nuevas cepas endémicas del virus influenza para la producción rápida de vacunas). No es sorprendente que cepas de HIV-1 con deleciones viciosas en sus genes reguladores se están investigando como vacunas protectoras. Queda claro que el potencial es enorme.

Es muy probable que en un futuro cercano se aproveche en forma espectacular el **tropismo** de los microorganismos atenuados por **el sitio** donde ocurre la **infección natural**, para conseguir la inmunidad intestinal contra la fiebre tifoidea y el cólera, mediante el uso de formas atenuadas de cepas de *Salmonella* y *Vibrio cholerae* en las que se identificaron los genes de virulencia y fueron modificados por ingeniería genética.

Vectores microbianos para otros genes

Una treta ingeniosa consiste en utilizar un virus como un "transportador" para los genes que codifican un inmunógeno de vacuna. La incorporación de tales genes "extraños" dentro de vectores virales recombinantes atenuados como el del virus de la viruela aviaria y la cepa Ankara del virus vacuna modificada, el cual infecta huéspedes mamíferos pero es incapaz de replicarse en forma efectiva, proporciona una poderosa estrategia de vacunación con muchos beneficios. Los genes pueden derivar de microorganismos de difícil crecimiento o de peligrosidad inherente y los productos construidos en sí mismos se caracterizan por una replicación defi-

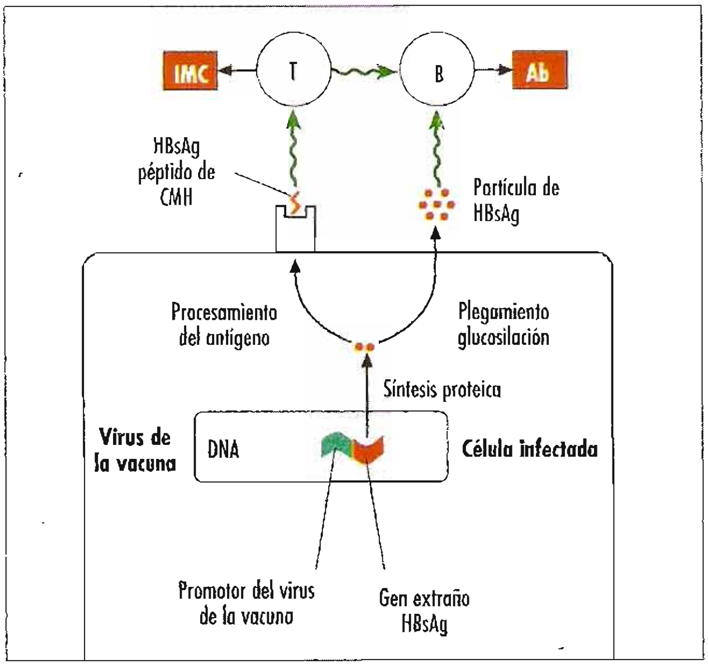


Fig. 14-5. Vacuna que contiene el antígeno de superficie del virus hepatitis B (HBsAg) y que utiliza un transportador del virus de la viruela vacuna atenuado. La proteína del HBsAg es sintetizada por la maquinaria celular de la célula huésped: una parte es secretada para formar la partícula de 22 nm que estimula la producción de anticuerpos y otra parte continúa la vía de procesamiento del antígeno, para estimular la inmunidad celular (IMC) y la actividad de las células T helper.

ciente, no se integran, son estables y relativamente fáciles de preparar. Las proteínas codificadas por estos genes se expresan en forma apropiada *in vivo*, en lo que respecta a la glucosilación y secreción, y son procesadas para la presentación al complejo *mayor* de histocompatibilidad (CMH) por las células infectadas, de esta forma dotan al huésped con inmunidad humoral e IMC.

Los vectores del virus vacuna expresan una amplia variedad de genes y se demostró que los productos de genes que codifican proteínas de la envoltura viral, como la hemaglutinina del virus influenza, la glucoproteína del virus de la estomatitis vesicular, la gp120 del virus de la inmunodeficiencia humana-1 (HIV-1) y la glucoproteína D del virus herpes simple, podrían ser procesados en forma correcta e insertado en la membrana plasmática de las células infectadas. El antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg) fue secretado por células infectadas por el virus vacuna recombinante como las partículas características de 22 nm (fig. 14-5). Se trata de un método que impresiona y con el cual se protegió a los chimpancés de los efectos clínicos del virus de la hepatitis B, mientras que los ratones inoculados con la hemaglutinina recombinante del virus influenza generaron células T citotóxicas y quedaron protegidos de la infección por influenza.

Se centró la atención en la BCG como un vehículo de los antígenos requeridos para la inducción de la inmunidad celular T mediada por CD4. El microorganismo es avirulento, se asocia con baja frecuencia de complicaciones graves, puede administrarse en cualquier momento después del nacimiento, posee potentes propiedades como adyuvante, proporciona una IMC duradera luego de una sola inyección y cuesta tan sólo U$S 0,05 la dosis. El desarrollo de vectores transportadores que pueden replicarse en *E. coli* como plásmidos y en micobacterias como fagos permitió introducir el DNA extraño en cepas de *M. smegmatis* y de vacuna BCG. Podemos esperar muchos avances en este campo; así, la incorporación del gen de resistencia a la kanamicina en un plásmido aporta un marcador seleccionable para las bacterias transformadas, mientras que la inclusión de una secuencia de señal permite la secreción de la proteína recombinante. La BCG recombinante, diseñada por ingeniería para expresar la proteína A de la superficie externa (OspA) de *Borrelia* en su membrana celular, indujo excelentes títulos de anticuerpos. Para los interesados, *Borrelia burgdorferi* es el agente etiológico de la enfermedad de Lyme, que se asocia con artritis.

La capacidad de *Salmonella* para inducir **respuestas de la mucosas mediante inmunización oral** se aprovechó mediante el diseño de vectores que permiten la expresión de cualquier antígeno proteico ligado a la enterotoxina de *E. coli*, un poderoso inmunoestimulante de la mucosa. Una posibilidad atractiva es que la vía oral de vacunación sea aplicable no sólo para establecer inmunidad en la mucosa intestinal sino también para aportar una protección sistémica. Por ejemplo, *Salmonella typhimurium* no sólo invade la capa mucosa del intestino sino que también infecta células del sistema fagocítico mononuclear de todo el organismo; por lo tanto estimula la producción de anticuerpos humorales y secretores, así como la inmunidad celular mediada por células CD4 y CD8. Ya que puede lograrse que una *Salmonella* atenuada exprese proteínas de *Shigella*, cólera, esporozoítos de paludismo, etc., es absolutamente factible considerarlas como potenciales vacunas orales. *Salmonella* también puede transportar "genes extraños" dentro de plásmidos separados de DNA, y, luego de la fagocitosis por las células presentadoras de antígenos, los plásmidos pueden liberarse desde los fagosomas hacia el citosol, si el plásmido porta un gen de listeriolisina recombinante o si la bacteria es una mutante auxótrofa cuyas paredes celulares se desintegran dentro del fagosoma. Después el plásmido se moviliza al núcleo, donde es transcripto para producir el antígeno deseado. Es bastante llamativo que estos microorganismos atenuados sean muy efectivos al ser inhalados; por ejemplo, la inmunización intranasal con BCG recombinante que expresa la lipoproteína OspA (véase arriba) induce respuestas inmunes sustanciales en la mucosa y, en nivel sistémico, son comparables a las obtenidas por vía parenteral. Los vacunadores pronostican con confianza el advenimiento de la **"era nasal"** y en poco tiempo oiremos más sobre ensayos en seres humanos con esta amplia variedad de vectores atenuados.

Limitaciones en el uso de vacunas atenuadas

Las vacunas atenuadas contra la poliomielitis (Sabin), sarampión y rubéola ganaron aceptación general; sin embargo, con las vacunas con virus vivos existe la posibilidad de que el ácido nucleico pueda incorporarse en el genoma del huésped o que se revierta hacia una forma virulenta, como se vio hace poco con la reactivación de la forma viva atenuada del virus varicela zoster (varicela) en individuos que mostraron una respuesta de anticuerpos con títulos relativamente bajos. La reversión es menos probable si las cepas atenuadas contienen varias mutaciones. Otra desventaja de las cepas atenuadas es la dificultad y el costo de mantenimiento de conservación en frío, en especial en lugares alejados de los centros urbanos. En enfermedades como la hepatitis viral, el SIDA y el cáncer los peligros asociados con las vacunas con agentes vivos desalientan su uso, como lo atestigua la experiencia con el virus atenuado de la inmunodeficiencia simiana en monos (véase pág. 363). Como se mencionó antes, con ciertas vacunas hay un riesgo pequeño pero real de desarrollar complicaciones, y no es exagerado enfatizar el hecho de que **este riesgo debe compararse con la probabilidad esperada de contraer la enfermedad con sus propias complicaciones**. Cuando éste es mínimo algunos prefieren evitar la vacunación general y, en caso necesario, contar con el rápido respaldo de la inmunización pasiva en aquellas localidades en que aparezcan brotes aislados de la enfermedad infecciosa.

Es importante identificar los niños con inmunodeficiencia antes de inyectarles microorganismos vivos; un niño con un deterioro en la reactividad de las células T puede ser sobrepasado por la BCG y fallecer. Quizá esto sólo sea un relato enfermizo, pero se dice que en un país en particular en un momento dado no había adultos con deficiencia de células T; ¿la razón? todos los niños habían sido inmunizados con la vacuna BCG con microorganismos viables como parte de un programa de salud pública (¡!). El grado de riesgo al que están expuestos los niños con una deficiencia inmunitaria parcial aún está por determinarse. Tampoco es aconsejable administrar vacunas con microorganismos vivos a pacientes tratados con corticoides, con fármacos inmunosupresores, radioterapia o que padecen enfermedades malignas como linfomas o leucemia; las mujeres embarazadas también deben ser incluidas, por la vulnerabilidad del feto.

Uso en un contexto veterinario

Por supuesto hay una preocupación menor por los efectos colaterales mínimos cuando las vacunas son para uso veterinario; por ejemplo, se obtuvieron resultados excelentes con el uso de cepas del virus vacuna existentes para morriña en el ganado y rabia en zorros. En este último caso se distribuyó desde el aire un cebo con el virus vacuna recombinante, que expresa la glucoproteína de superficie del virus de la rabia e inmunizó al 80% de los zorros de esa región. Desde entonces no se detectó ningún caso de rabia, pero las consideraciones epidemiológicas indican que con la mayor densidad de zorros resultante, más grande será el porcentaje a ser inmunizado. Por lo tanto, se debería aumentar la eficacia de la vacuna o continuar la selección de los animales, una consecuencia interesante de la interferencia con los ecosistemas. En ciertas reservas de animales, es menos complicado el uso de la mencionada inmunización para controlar brotes locales de rabia en algunas especies raras de mamíferos, como el perro salvaje africano, amenazadas de extinción por el virus.

VACUNAS DE SUBUNIDADES CON ANTÍGENOS PROTECTORES INDIVIDUALES

Un parásito o una bacteria completos por lo general contienen muchos antígenos que no participan en la respuesta protectora del huésped, pero pueden dar lugar a problemas al suprimir la respuesta contra los antígenos protectores o al provocar hipersensibilidad, como vimos en el capítulo anterior. La vacunación con los antígenos protectores aislados puede evitar estas complicaciones; la identificación de estos antígenos abre la posibilidad de fabricarlos en forma sintética en los casos en que es impracticable el crecimiento del microorganismo en gran escala o es demasiado costoso el aislamiento de los componentes individuales.

La identificación de los antígenos protectores se facilita mucho si se cuenta con un modelo experimental. Si la protección es mediada por anticuerpos, se puede ensayar con diferentes anticuerpos monoclonales y utilizar los más exitosos para extraer el antígeno. Si la variación antigénica es el factor principal, se hacen intentos desesperados para identificar algún elemento constante que proporcione una base para la vacunación; otra vez se recurre al uso de anticuerpos monoclonales, por su capacidad para reconocer una especificidad única entre una mezcla muy compleja. Si la protección se basa en principio en la actividad de células T, entonces el método consistiría en la identificación de clones de células T individuales capaces de transferir protección en forma pasiva. Retornando a los seres humanos, se busca alentar que los modelos experimentales se centren en el blanco correcto mediante la confirmación de que la respuesta inmune frente a los antígenos identificados en los modelos se correlaciona con la protección en los individuos infectados en forma natural.

Uso de componentes purificados

Las exotoxinas bacterianas, como las producidas por los bacilos de la difteria y del tétanos, se utilizaron como inmunógenos desde hace mucho tiempo. Primero, por supuesto, deben detoxificarse mediante el tratamiento con formaldehído, que felizmente no destruye los principales determinantes inmunogénicos (fig. 14-6). La inmunización con el **toxoide**, por lo tanto, provocará la formación de anticuerpos protectores, que neutralizarán la toxina mediante el bloqueo estereoquímico del sitio activo y facilitará su eliminación por parte de las células fagocíticas. El toxoide por lo general se administra luego de su adsorción en hidróxido de aluminio, que actúa como un adyuvante y produce títulos elevados de anticuerpos.

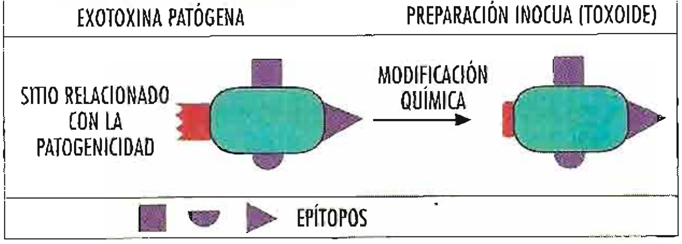

EXOTOXINA PATÓGENA
PREPARACIÓN INOCUA (TOXOIDE)
SITIO RELACIONADO CON LA PATOGENICIDAD
MODIFICACIÓN QUÍMICA
EPÍTOPOS

Fig. 14-6. Modificación de una toxina en un toxoide inocuo sin perder muchos de los determinantes antigénicos. De este modo los anticuerpos elaborados contra el toxoide reaccionarán bien contra la toxina original.

Ahora el énfasis se desplaza hacia la clonación genética de proteínas individuales, una vez que se las haya identificado en forma inmunológica y biológica. Por lo general, una subunidad proteica utilizada en una vacuna debería contener un número suficiente de epítopos para células T, con el fin de evitar la falta de respuesta relacionada con los antígenos leucocitarios humanos (HLA) en la población inmunizada. Con el objeto de mantener un conjunto de células B con memoria durante un período razonable, se necesita que el antígeno persista en las células dendríticas foliculares en una forma resistente a la degradación proteolítica y retenga su configuración tridimensional nativa. La glucosilación de la proteína contribuye a esa estabilidad, pero al mismo tiempo es posible que no provoque una buena respuesta de células T, de modo que la vacuna necesitaría un suplemento con un aporte de epítopos para células T desnaturalizados por separado. Las vacunas de polisacáridos purificados se ubican en una categoría diferente, debido a que no pueden estimular las células T helper o inducir una memoria adecuada, y normalmente requieren acoplarse a alguna proteína inmunogénica transportadora, como el toxoide tetánico o las proteínas micobacterianas del choque térmico (fig. 14-7). Esta maniobra puede generar títulos de anticuerpos respetables, pero serán estimulados sólo por la infección natural si el transportador deriva del agente infectante mismo o está relacionado con él.

Los antígenos se pueden sintetizar mediante la clonación genética

La tecnología de DNA recombinante hace posible la elaboración de genes que codifiquen una parte de la cadena polipetídica o toda la proteína casi a voluntad, y expresarlos en un vector apropiado. Ya reflexionamos sobre el virus de la vacuna y otros vectores recombinantes. Otra estrategia consiste en fusionar el gen con el elemento Ty de la levadura, que se autoensambla en una partícula similar al virus altamente inmunógeno. De manera similar, los péptidos pueden fusionarse con el antígeno del core del virus hepatitis B, que se polimeriza en forma espontánea en partículas de 27 nm capaces de estimular una respuesta intensa de células T helper. Sin embargo, a menudo deseamos desarrollar vacunas

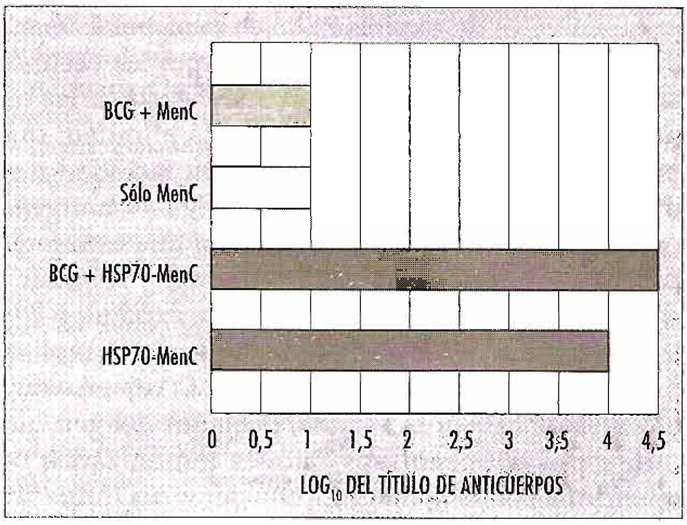


Fig. 14-7. El efecto transportador de una de las proteínas del choque térmico de las micobacterias (hsp70) sin adyuvante. Respuesta de anticuerpos frente al polisacárido de los meningococos del grupo C (Men C) conjugado con hsp70 luego de inyectarlo en ratones previamente estimulados por *Mycobacterium* atenuado de la BCG o no expuestos. (De Lambert P-H, Louis JA y Del Giudice [1992]. En: Gergely *et al* (eds). *Progress in Immunology* VIII, pp. 683-689. Springer- Verlag, Budapest.)

que utilicen el producto del gen mismo, incorporado en un adyuvante. Los vectores de baculovirus producen grandes cantidades de proteínas recombinantes glucosiladas en líneas celulares de polilla, mientras que el producto secretado por las células de levadura que expresan el gen del antígeno *HBsAg* está disponible en la forma de una vacuna comercial. En la actualidad se están desarrollando bananas transgénicas transformadas en forma estable para expresar proteínas de vacunas. Las bananas son económicas, crecen con facilidad en los países en vías de desarrollo y a los niños les gusta comerlas crudas, lo que evita la inactivación por la cocción. Es una idea extraordinaria el hecho de que unas pocas hectáreas de cultivo de la fruta podrían satisfacer el requerimiento global anual de una sola dosis del inmunógeno por vía oral.

La potencialidad de la clonación de genes es obviamente vasta y, en principio, económica; pero a veces es difícil identificar un buen vector de expresión, obtener el plegamiento correcto de la cadena peptídica para producir una proteína activa y separar el producto requerido desde la mezcla del cultivo en un estado no desnaturalizado. Una limitación para la clonación de genes es que los antígenos formados por hidratos de carbono no pueden sintetizarse en forma directa por la tecnología de DNA recombinante, aunque ya se han clonado muchos de la cohorte de genes que codifican la cascada de enzimas necesarias para producir los hidratos de carbono.

El gen desnudo actúa por sí mismo como vacuna

Los equipos que trabajan con J. Wolff y P. Felgner experimentaron con una nueva estrategia de terapia génica que involucra la unión del DNA con cargado negativo con lípidos catiónicos, que se adherían a la superficie con carga negativa de las células viables y luego, al parecer, ganaban acceso. La sorpresa fue que los controles a los que se les inyectó DNA sin los lípidos mostraron una *captación incluso mayor de DNA* y la expresión de la proteína que codificaba, lo que dio origen a toda una nueva tecnología, **la terapia de DNA desnudo**. Como señaló Wolff: "Tratamos de nuevo y funcionó. Alrededor de la cuarta o quinta vez, supimos que estábamos descubriendo algo grande. Aún hoy siento escalofríos cuando veo que funciona". Pues bien, he aquí la verdadera emoción de un hallazgo espectacular, aunque como sucede por lo general, éste surja por casualidad. Con rapidez se valoró que la inyección de DNA actúa como una fuente de inmunógeno *in situ* y puede inducir respuestas inmunes intensas. Así, ahora los vacunadores de todas partes tratan de adaptar la nueva tecnología con premura.

La unidad de transcripción compuesta por el cDNA del gen con un poli-A de terminación se inserta en un DNA del plásmido con un promotor de citomegalovirus y una secuencia bacteriana CpG, que es un adyuvante potente. Por lo general se inyecta en el músculo, en donde puede generar una expresión prolongada de la proteína. Sin dudas, la célula principal es la célula dendrítica presentadora de antígeno, que puede ser transfectada en forma directa, endocitar el antígeno soluble secretado hacia los espacios intersticiales del músculo o hacerse cargo de las células muertas o dañadas por la vacuna. Las secuencias inmunoestimulatorias CpG inducen la síntesis de IFNα y β, IL-12 e IL-18, que promueven la formación de células Th1; a cambio esto genera una buena inmunidad mediada por células, ayuda a la síntesis de ciertas clases de anticuerpos por las células B (p. ej., IgG2a en el ratón) e induce una buena respuesta de células T citotóxicas, lo que refleja tal vez la expresión citosólica de la proteína y su procesamiento con las moléculas CMH clase I. Veamos un ejemplo. Se recordará que las mutaciones puntuales frecuentes (desplazamiento; pág. 301) en regiones antigénicamente importantes de la hemaglutinina de superficie del virus influenza dan origen a una variación antigénica sustancial, mientras que

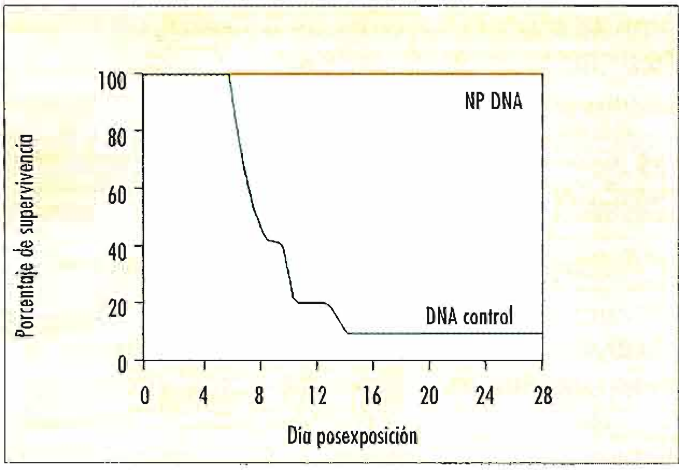


Fig. 14-8. **Protección ante la exposición con una cepa heteróloga del virus de la influenza tras la vacunación con DNA y nucleoproteína.** Se inmunizaron los ratones con tres dosis de 200 µg de nucleoproteína (NP) o un vector de DNA (control), separados por intervalos de tres semanas, y se los desafió con una dosis letal de una cepa heteróloga del virus influenza tres semanas después de la última inmunización. La supervivencia de los ratones que recibieron DNA-NP fue significativamente mayor que la de los animales que recibieron el vector (p = 0.0005). (Datos cedidos por gentileza de la Dra. Margaret A. Liu et al. De: *DNA and Cell Biology* [1993] 12 [9] y reproducidos con autorización de Mary Ann Liebert Inc.)

las proteínas internas principales que inducen respuestas inmunes mediadas por células T permanecieron relativamente conservadas durante los últimos 60 años. Siguiendo esta línea de razonamiento, las DNA nucleoproteínas debieran proporcionar una protección amplia contra otras cepas del virus influenza y, de hecho, lo hacen (fig. 14-8). Una combinación de segmentos de DNA que codifican la hemaglutinina (incluida sólo por cuestiones de procedimientos) y genes de nucleoproteínas otorgaron una buena protección contra el desafío a los primates no humanos y a los hurones, y protegió a estos últimos contra el desafío con una cepa epidémica viral humana, antigénicamente distinta y más efectiva que la vacuna aprobada en la actualidad para uso clínico. También se obtuvo con facilidad una respuesta excelente de anticuerpos para la hemaglutinina viral en monos. La vacunación también puede lograrse cubriendo los plásmidos con partículas diminutas de oro e introduciéndolos en las células de la piel por medio de una pistola de helio "biolístico" de alta presión (véase pág. 157). Esta técnica usa 100 veces menos plásmido de DNA que la inyección intramuscular y la respuesta se dirige más hacia la producción de anticuerpos dependientes de células Th2, tal vez porque la dosis de antígeno es muy baja como para estimular las células Th1.

Los niveles de expresión bajos pero persistentes de la proteína antigénica, inducidos por las vacunas de DNA desnudo, determinan una mezcla de las células B con memoria de relativa alta afinidad, que pueden ser puestas en evidencia con facilidad mediante una reinyección que contenga el antígeno proteico (fig. 14-9). Esto dio origen a una estrategia bastante impresionante de **"programar y reforzar"**, en la cual las células con memoria se expanden con la reinyección de un vector viral que no se replica, como el virus de la viruela aviaria o la cepa Ankara modificada del virus vacuna, portador del gen que codifica el antígeno. Los ratones inmunizados de esta forma con la hemaglutinina del virus influenza producen niveles satisfactorios de anticuerpos IgG2a y resultaron protegidos durante la exposición a virus vivos. En forma notable, hasta un 30% de las células T circulantes CD8 fueron específicas para el epítopo inmunizante, como muestra la unión con el tetrámero CMH clase I (véase pág 138). Una estrategia similar con *Plasmodium berghei* indujo niveles elevados de células CD8 específicas para el péptido, que mediante la secreción de IFNγ brindó protección ante la exposición de esporozoítos.

Una nueva generación de vacunas genéticas supera la poca eficacia de algunas vacunas basadas en DNA-RNA, al incorporar la maquinaria de replicación utilizada por miembros del género alfavirus, que introducen los virus Sindbis y Semliki Forest, dentro del DNA del plásmido. El **genoma alfaviral** es una cadena simple positiva de RNA que codifica genes estructurales, uno de los cuales puede ser sustituido por el gen antigénico y una replicasa de RNA. Las células transfectadas con el replicón del plásmido quedan cargadas con el alfavirus y el antígeno, y padecen un complicado final apoptósico después del cual son captadas por células presentadoras de antígeno para iniciar una respuesta inmune poderosa.

Hay mucho interés en lo que se refiere a vacunas de DNA. Si consideramos el virus de la influenza, por ejemplo, el DNA necesario para preparar una vacuna puede obtenerse en forma directa a partir de material clínico actual sin tener que seleccionar cepas mutantes específicas. Quiere decir que antes se requerían 2 años para hacer una vacuna recombinante y hoy se reduce a unos cuantos meses, al reunir velocidad y simplicidad. Las vacunas de DNA no requieren los procedimientos costosos y complicados de síntesis y purificación proteica que demanda la formulación de las subunidades; pueden utilizarse medios de producción casi idénticos para las diferentes vacunas candidatas en su totalidad; se pueden preparar en forma de polvo de alta estabilidad, que no depende de la compleja cadena de frío

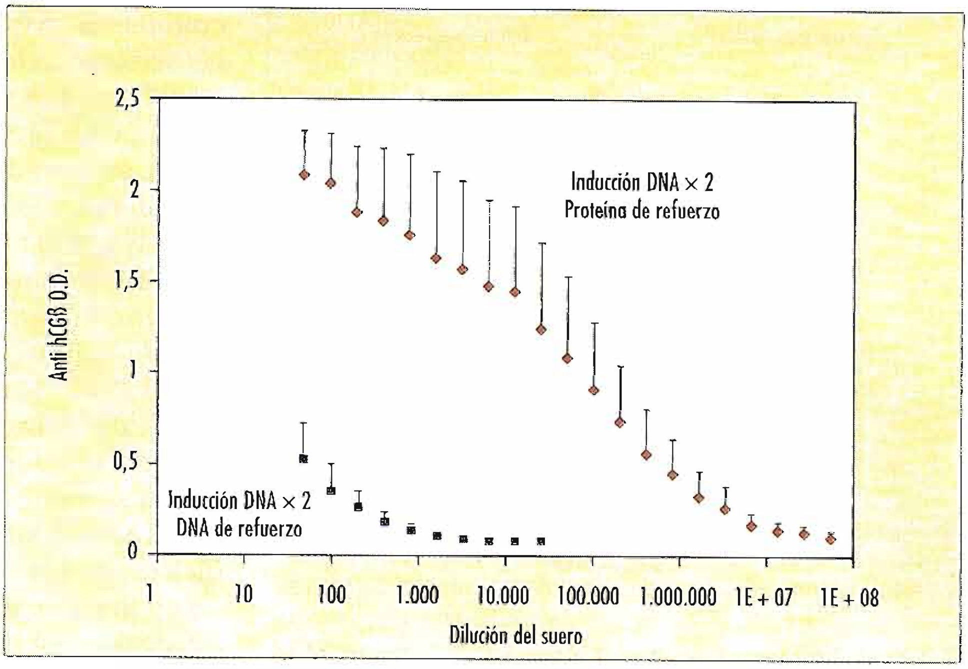


Fig. 14-9. Inducción de células de memoria mediante una vacuna de DNA y refuerzo en la producción de anticuerpos con la proteína inmunógena humana, gonadotrofina coriónica-β (β-hCG). Cada grupo de cinco ratones (C57BL/6xBALB/c) F1 recibió 50 µg del plásmido de DNA-β-hCG en las semanas 0 y 2; un grupo recibió una inyección adicional del plásmido, mientras el otro fue reforzado con 5 µg del antígeno proteicoβ-hCG en adyuvante RIBI (véase pág. 341). Mediante técnicas de ELISA indirecto se investigaron anticuerpos contra β-hCG en muestras de suero diluidas. Se presentan los promedios de los títulos + DE. (Datos de Laylor R, Lund T et al. [1999]. *Clinical and Experimental Immunology* 117, 106.)

necesaria para las vacunas termosensibles, como la antipoliomielítica oral, en los países tropicales. Pero, por sobre todas las cosas, son increíblemente económicas. Los 3 dólares que cuesta una inyección de vacuna recombinante contra la hepatitis B pueden representar, en algunos países, todo el presupuesto sanitario para un individuo, mientras que una sola inyección de la vacuna de DNA podría constituir una pequeña fracción de ese presupuesto. Los ensayos actuales toman en cuenta consideraciones de seguridad, como la posibilidad de que el plásmido quede incorporado en forma permanente dentro del genoma del huésped. El uso de las vacunas de DNA en forma global en seres humanos en el futuro dependerá de los resultados de los estudios, si bien las observaciones hasta el presente son muy alentadoras.

PUEDEN NECESITARSE VACUNAS CON EPÍTOPOS ESPECÍFICOS

La mayor parte de los inmunógenos, en especial las proteínas, presenta al sistema inmune una variedad de epítopos para células B y T. La mayor parte, sino todos, pueden inducir respuestas protectoras, pero algunas pueden tener características indeseables. Por ejemplo, si se produce una reacción cruzada contra el epítopo propio, como sucede entre el *Trypanosoma cruzi* y el músculo cardíaco, pueden producirse reacciones autoinmunes potencialmente patógenas. A veces, una región inmunodominante, como el asa V3 de la gp120 del HIV, acapara la respuesta de anticuerpos a expensas de las regiones conservadas más debilmente inmunogénicas, pero en forma continua se escapa de la captura por su alto índice de mutación. Mutantes de escape similares aparecen en la respuesta Tc contra los epítopos dominantes destinados a las células T, altamente mutantes, que integran los antígenos del paludismo y varias proteínas antigénicas virales. Los efectos indeseados de los epítopos pueden observarse en el llamado fenómeno del **"pecado antigénico original"**, en el que una segunda infección por cepas del virus influenza, relacionadas desde el punto de vista antigénico pero no idénticas, genera títulos más elevados de anticuerpos contra las cepas que produjeron la primera infección. También se concibe que ciertos epítopos pueden desviar las células T helper hacia un subgrupo inadecuado o generar una respuesta predominantemente supresora, antagonista o anérgica, capaz de inhibir la reactividad de las células T frente a los epítopos ligados al mismo inmunógeno (fig. 14-10).

Con frecuencia una infección natural origina una respuesta funcional deficiente de anticuerpos protectores y desalienta la búsqueda de candidatos para vacunar que podrían generar una inmunidad humoral efectiva. Sin embargo, en muchas de estas infecciones un anticuerpo monoclonal seleccionado en forma deliberada, específico para regiones conservadas pero de mayor debilidad inmunógena del microorganismo, puede ser protector, como se demostró en los modelos con HIV, virus Ebola e infecciones por *Candida*. En otras palabras, el epítopo que da origen al anticuerpo monoclonal protector es sometido como un inmunógeno cuando se presenta como un componente del microorganismo in-

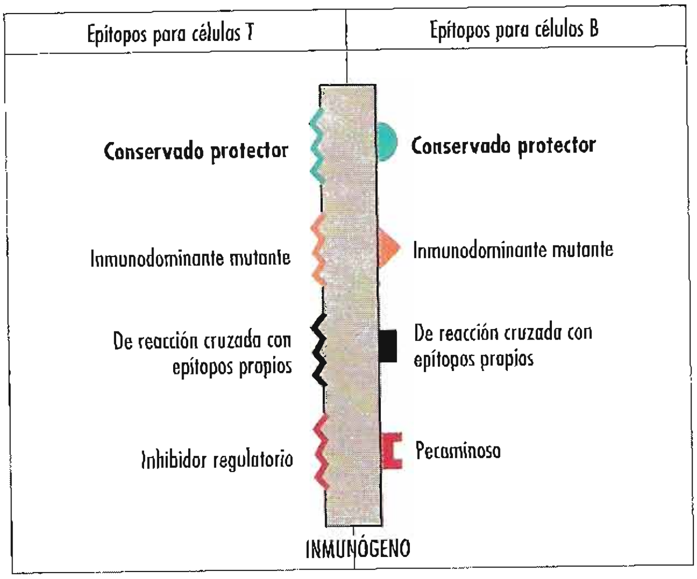


Fig. 14-10. Epítopos deseados (verde) y no deseados (rojo) en un inmunógeno proteico. Los epítopos conservados proporcionan una protección más amplia contra las cepas variantes mutantes, aunque algunas veces pueden ser inmunógenos débiles cuando se presentan en el microorganismo completo. Los epítopos pueden no ser deseados porque (i) son inmunodominantes y atraen la respuesta inmune principal, pero escapan de manera continua mediante mutación; (ii) reaccionan en forma cruzada contra epítopos propios y pueden desencadenar autoinmunidad; (iii) son responsables del "pecado antigénico original" (véase el texto), o (iv) inhiben o antagonizan la inmunidad mediada por células T.

fectante, pero debe ser potencialmente aprovechado para estimular niveles elevados de anticuerpos protectores, si pudiera extraerse de la "carpintería" molecular.

Si consideramos las diferentes circunstancias que hemos discutido, puede surgir la necesidad de una vacuna en la cual los epítopos protectores buenos puedan ser exponerse en la línea frontal y disociados del entorno molecular de los "tipos malos", que comprometen las respuestas protectoras. En otras palabras, necesitamos construir vacunas **epitopoespecíficas**, basadas con preferencia en las regiones conservadas, que proporcionen una defensa amplia. Varios son los métodos posibles.

Los epítopos pueden ser imitados por péptidos sintéticos

Epítopos para células B

Pueden sintetizarse con facilidad y a bajo costo pequeñas secuencias peptídicas correspondientes a epítopos importantes de un antígeno microbiano; las secuencias largas son de manufactura más costosa. Se podría predecir que si bien el péptido sintético posee la *secuencia* lineal de aminoácidos correcta, su estructura aleatoria podría convertirlo en un mal modelo de la *conformación* del antígeno original y, por lo tanto, en una mala vacuna para estimular la inmunidad humoral. Curiosamente, esto no siempre parece ser una gran desventaja. El péptido de 20 aminoácidos derivado de la proteína específica del virus aftosa (VP1) genera una buena respuesta neutralizante. La explicación proviene del análisis estructural con rayos X, que muestra que la secuencia peptídica está en una región "en asa" con una densidad electrónica borrosa que indica un trastorno importante. En este caso, el epítopo es lineal y, evidentemente, la flexibilidad de la estructura del asa se aproximaría a la del péptido libre, que de esta manera puede simular el epítopo en la molécula nativa del VP1 e induce una respuesta de anticuerpos protectores cuando se usa como vacuna (fig. 14-11 a y b). Cuando el epítopo es lineal pero su conformación está restringida por las estructuras adyacentes en la proteína intacta, la inmunización con el péptido libre tiende a producir anticuerpos de decepcionante afinidad por la proteína misma, por las razones expuestas en la figura 14-11c.

Epítopos para células T

Aunque los péptidos cortos puede que no tengan la conformación adecuada para estimular respuestas adecuadas de células B, sí son capaces de programar células T específicas para el antígeno, que reconocen la secuencia primaria en lugar de la configuración terciaria de la proteína. Si las células T programadas son intermediarios en la IMC y tal vez ayuden a las células B a elaborar anticuerpos, entonces permitirían al huésped encabezar el montaje de una respuesta efectiva frente a la exposición ulterior a la infección natural, y probaría ser una estrategia profiláctica útil.

Nos hemos referido a los epítopos para las células T, a menudo dominantes y sujetos al ritmo de una elevada mutación, que pueden inhibir o alterar las respuestas protectoras de la IMC. Bajo estas circunstancias, las secuencias peptídicas conservadas que forman **epítopos subdominantes o crípticos** (ver pág. 225) **pueden funcionar como vacunas efectivas.** La incapacidad de estas secuencias para brindar niveles de CMH-péptido adecuados para *programar* las células T en reposo cuando la proteína completa es procesada por las células presenta-

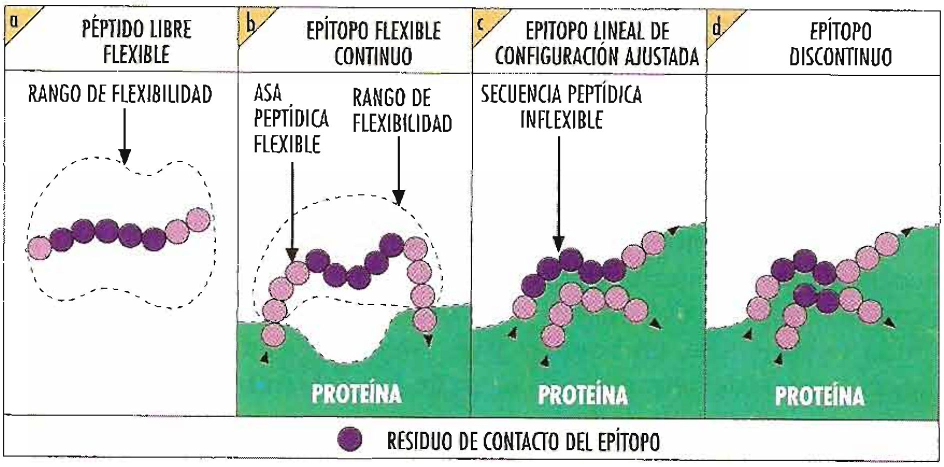


Fig. 14-11. **Base estructural de la imitación peptídica de los epítopos proteicos.** **a)** El péptido libre es muy flexible y puede adoptar una gran variedad de estructuras cuando está en solución. **b)** Si la secuencia peptídica está presente como un epítopo lineal, en una parte de una proteína que es un asa flexible o una cadena, esto existirá también en una variedad de estructuras en forma bastante parecida a la que presenta el péptido libre y se comportará comparativamente como antígeno y como inmunógeno (vacuna), de modo que el péptido estimulará el aumento de anticuerpos que reaccionarán bien contra la proteína nativa. **c)** Si el epítopo lineal en la proteína está restringido de manera estructural (o sea inflexible) representa sólo una de las múltiples configuraciones adoptadas por el péptido libre; entonces, si este péptido se utiliza para la inmunización, sólo una minoría de las células B estimuladas será complementaria de la forma de la proteína nativa, de modo que el péptido sería una vacuna ineficaz para inducir inmunidad humoral contra los microorganismos portadores del antígeno proteico. (Sin embargo, adviértase que los anticuerpos producidos serían buenos para realizar inmunotransferencia por Westernblot, en la que la proteína se desnaturaliza tras el tratamiento con dodecilsulfato sódico [SDS] y la estructura del péptido queda relativamente libre.) Los anticuerpos preformados contra la proteína reaccionarían contra el péptido aunque con menor afinidad, porque la energía debe usarse para restringir el péptido a una configuración única, que se adecue al anticuerpo (como la fuerza utilizada para contener a un loco en un chaleco de fuerza). Cuando la secuencia tiene un grado de restricción comparable, tanto en el péptido como en la proteína, como en las asas unidas por puentes disulfuro de la toxina diftérica y del antígeno de superficie de la hepatitis B, los sueros antipeptídicos reaccionan razonablemente bien contra la proteína nativa. **d)** Por lo común, los epítopos son discontinuos y, aunque sea difícil, podemos predecir los residuos de contacto, pero las técnicas para diseñar un péptido con la estructura apropiada no son óptimas, aunque algún progreso se ha hecho al utilizar anticuerpos para seleccionar en una biblioteca de bacteriófagos en forma aleatoria péptidos que están restringidos en un andamiaje estructural, como el que sostiene el asa CDR3 de la inmunoglobulina.

doras de antígeno, puede evitarse mediante la inmunización con dosis adecuadas del péptido sintético preformado. Como las células T **programadas**, a diferencia de las que están en **reposo**, pueden ser estimuladas por concentraciones mucho más bajas de CMH-péptido sin requerir necesariamente señales coestimulatorias importantes, reaccionarán con las células infectadas que han procesado y presentado los epítopos crípticos; más aún, dado que las células T programadas estarán dirigidas contra las secuencias conservadas, proporcionarán por lo tanto una amplia protección de IMC contra cepas mutadas.

Una gran preocupación con respecto a los péptidos como vacunas estimulantes de las células T es la variación en la capacidad para asociarse con las diferentes formas polimorfas de las moléculas del CMH presentes en una población heterogámica, lo que contribuye al efecto del gen de la respuesta inmune *(Ir)* antes descrito (véase pág. 238). Esto no es tan grave como pudiera pensarse, ya que la agrupación de tipos de HLA con estructuras de consenso de los bolsillos principales B y F en la hendidura fijadora de péptidos, les permite reconocer motivos peptídicos muy similares. Hasta ahora se identificaron tres de los denominados **supertipos HLA**, asociados a HLA-A2, HLA-A3 y HLA-B7, respectivamente, que cubre en total alrededor del 90% de la población. Los residuos 378-398 de la proteína del circumesporozoíto del paludismo es una excepción, al ser virtualmente un epítopo universal de células T reconocido por todos los individuos hasta aquí estudiados. Otros ejemplos son los residuos 307-319 de la hemaglutinina del virus influenza y también los residuos 830-843 y 947-967 de la toxina tetánica. Estas secuencias, y tal vez las proteínas del choque térmico altamente conservadas, pueden aportar epítopos promiscuos de las células T helper (p. ej., independientes del HLA) para conjugarse con vacunas peptídicas.

Preparación de los péptidos inmunógenos

La inmunogenicidad de los péptidos para las células B invariablemente está relacionada con una dependencia de la colaboración de células T; se piensa que la falta de aporte de epítopos ligados a células T es responsable de las respuestas deficientes en anticuerpos contra el péptido del asa VP1 del agente etiológico de la fiebre aftosa, en bovinos y porcinos, y contra los polímeros del tetrapéptido asparagil-alanilasparagilprolina (NANP) de los antígenos del circumesporozoíto del paludismo en el hombre (véase pág. 338). Cuando se acopló el péptido 378-392, un transportador general de células T (véase en pág. 333), a la repetición del tetrámero $(NANP)_3$, se obtuvieron buenas respuestas de anticuerpos en todas las cepas de ratones probadas. Tras la programación con este péptido sintético, los esporozoítos completos podrían aumentar los títulos de anticuerpos. Esto presenta dos planteos: primero, como ya hemos notado, para que la infección natural potencie la respuesta inmune deben presentarse tanto los epítopos para células B como para las células T; segundo, deben estar juntos, de modo que el epítopo para las células T sea captado para ser procesado por el linfocito que reconoce el epítopo para las células B (fig. 9-12). Esto no siempre implica que la unión sea covalente en el agente infeccioso, ya que los ratones estimulados con el antígeno del core del virus de la hepatitis B desarrollan excelentes respuestas contra el antígeno de superficie cuando se los enfrenta con el virión completo, o sea que una relación interestructural puede funcionar tan bien como una intramolecular. Por el contrario, los animales inmunizados con un péptido de HBs para células B acoplado a un transportador peptídico estreptocócico para células T requiere un refuerzo posterior con la vacuna original, pero no admite la infección natural como refuerzo. Las proteínas del choque térmico de las micobacterias son excelentes transportadores de péptidos, aun en ausencia de adyuvantes e independientes de una programación con BCG (fig. 14-7), posiblemente debido a la preprogramación de las respuestas de reacción cruzada de las proteínas del choque térmico propias en el "homúnculo inmunológico" (véase pág. 233). En algunos casos las respuestas inducidas por las proteínas transportadoras podrían suprimir la capacidad de una segunda inyección de la vacuna para freforzar los niveles de anticuerpos peptídicos mediante la competición antigénica; en este caso, los péptidos que transportan el epítopo para células T presentan una ventaja. Vale la pena notar que la presentación de un péptido, como el asa VP1 del virus de la fiebre aftosa, en su forma octamérica acoplado a un esqueleto de poli-L-lisina, produce respuestas de mayor magnitud que el monómero, una estrategia de éxito probado cuando se unen múltiples cúmulos de péptidos al pequeño núcleo central de oligolisina, en lo que se ha dado en llamar "el sistema peptídico multiantigénico" (MAP). ¿No actúan las unidades multipeptídicas como transportadores unas de otras?

No obstante estas consideraciones, **la mayoría de los determinantes proteicos son discontinuos**; por ejemplo, comprenden residuos de aminoácidos muy alejados en la secuencia primaria pero próximos unos de otros por el plegado de los péptidos (fig. 14-11; véase pág. 332). En tales casos, los péptidos que representan secuencias lineales de la estructura primaria podrían, cuanto más, imitar sólo parte de un determinante y generarán una respuesta de baja afinidad. La definición de un determinante discontinuo por cristalografía de rayos x y la mutagénesis en relación con el sitio demandan mucho tiempo, y el análisis informático quizá más aun. Incluso cuando se cuenta con esta información, la síntesis de un péptido configurado, que podría imitar desde el punto de vista topográfico los residuos de contacto que constituyen tal epítopo, sigue siendo un gran desafío. Se están realizando progresos, mediante el uso de anticuerpos monoclonales, para seleccionar epítopos peptídicos con alta afinidad para hexapéptidos o heptapéptidos obtenidos al azar a partir de bibliotecas de bacteriófagos, restringidas en un armazón estructural, tal como el asa CDR3 de la región variable de las inmunoglobulinas. Nosotros también hemos hallado este tipo de epítopo. Ya que éste podría ser seleccionado por un anticuerpo, lo clasificaríamos como un **antiidiotipo** y del mismo modo, si lo usamos como un inmunógeno, podría actuar como un **idiotipo**.

Los antiidiotipos pueden aprovecharse como vacunas con epítopos específicos

En principio, los **antiidiotipos de imagen interna** proporcionan sustitutos de los epítopos discontinuos para células B, por poseer una estructura innata capaz de unirse al sitio de combinación del antígeno con el anticuerpo antiidiotipo. No es necesario conocer los residuos de contacto dentro del epítopo. Dado que la unión antígeno-anticuerpo depende en su totalidad de fuerzas intermoleculares no covalentes, que sólo se tornan significativas cuando las superficies moleculares interactuantes

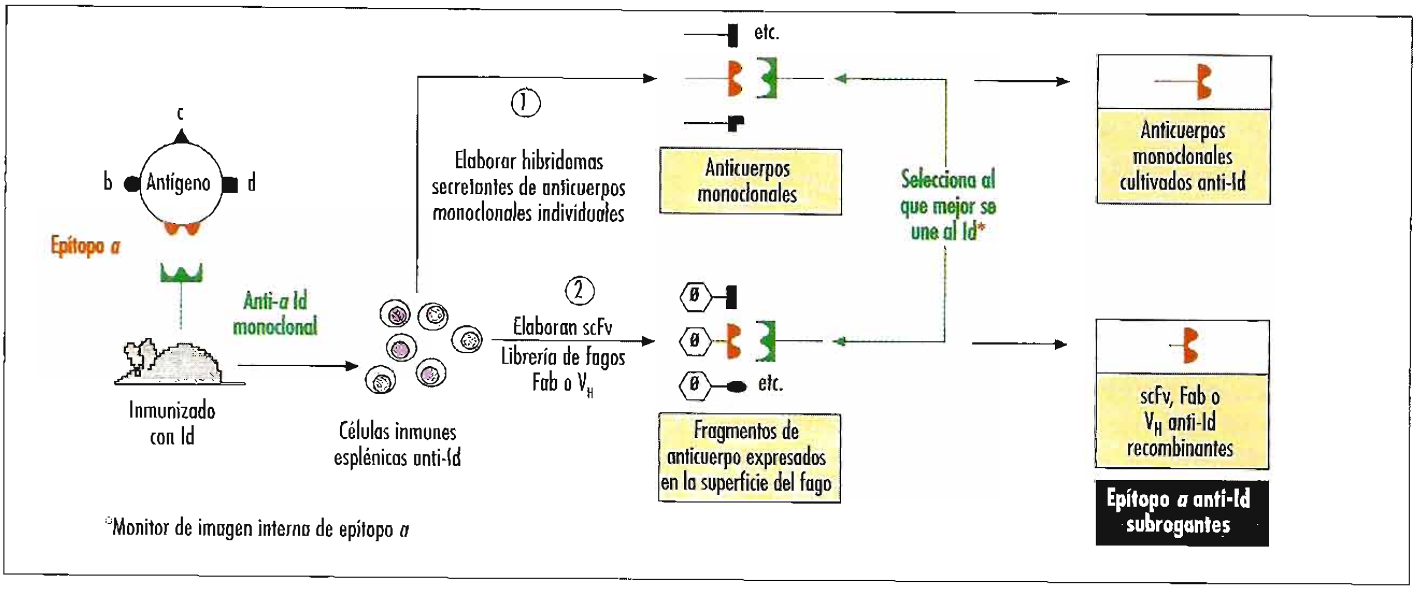

etc.
①
Elaborar hibridomas secretantes de anticuerpos monoclonales individuales
c
b
Antígeno
d
Epítopo *a*
Anticuerpos monoclonales
Selecciona al que mejor se une al Id*
Anticuerpos monoclonales cultivados anti-Id
Anti-*a* Id monoclonal
②
Elaboran scFv Librería de fagos Fab o V_H
etc.
Inmunizado con Id
Células inmunes esplénicas anti-Id
Fragmentos de anticuerpo expresados en la superficie del fago
scFv, Fab o V_H anti-Id recombinantes
Epítopo *a* anti-Id subrogantes
*Monitor de imagen interna de epítopo *a*

Fig. 14-12. Derivación de antiidiotipo similar a un epítopo a para células B. Un anticuerpo monoclonal de alta afinidad (idiotipo; Id) específico para el epítopo *a* del antígeno se inyecta para generar una respuesta anti Id. Las células esplénicas del ratón inmunizado son utilizadas 1) para elaborar una variedad de hibridomas, cada uno secretante de un anticuerpo monoclonal individual, del cual una pequeña parte será la imagen interna anti Id, o 2) una biblioteca de fagos que expresan los fragmentos de la superficie del anticuerpo. Éstos son investigados con el Id monoclonal original para seleccionar el monoclonal anti Id que mejor cuadre o los fragmentos del anticuerpo. A su vez, éstos son monitoreados en su comportamiento como imagen interna de *a*, mediante su capacidad para bloquear la unión del Id original con *a*, para unirse a otros monoclonales anti-*a* y para ser reconocidos por un antisuero policlonal originado contra el antígeno en otras especies. Entonces se puede producir un candidato exitoso en forma masiva para proporcionar una vacuna subrogante para el epítopo *a*.

están muy próximas entre sí (véase pág. 94), todo lo que se requiere es que, en medio de un espectro de millones de formas diferentes disponibles de anticuerpos, uno seleccione las que tengan una configuración topográfica tridimensional muy parecida y complementaria, que facilite el contacto íntimo de estas fuerzas y permita una unión efectiva. Si el lector observa la figura 11-10, verá que hay dos categorías principales de antiidiotipo: $Ab_{2\alpha}$, que reconoce idiotipos de reacción cruzada quizá reguladores, y $Ab_{2\beta}$, que al parecer se comportan como imágenes internas del determinante antigénico. En los casos en los que el principal Id se asocia en su mayor parte con una especificidad dada (p. ej., el Id T15 murino es abundante entre los anticuerpos contra la fosforilcolina), entonces los $Ab_{2\alpha}$ anti-Ids podrían proporcionar vacunas potencialmente útiles en particular contra los hidratos de carbono de notoria pobreza como inmunógenos en los individuos muy jóvenes. También podrían aplicarse a la expansión de clones antitumorales específicos, con sus propios idiotipos privados en los pacientes con cáncer. Sin embargo, por lo general los antiidiotipos $Ab_{2\beta}$ de imagen interna son capaces de estimular un espectro más amplio de linfocitos y debe ser la estrategia de elección. En la figura 14-12 se describe cómo se generan vacunas con antiidiotipos $Ab_{2\alpha}$ que imitan epítopos definidos mediante anticuerpos monoclonales de alta afinidad (p. ej., idiotipos). Podríamos llamarlo **inmunización invertida** en el sentido de que estamos revirtiendo la progresión normal desde el antígeno hacia el anticuerpo, al utilizar anticuerpos para generar antígenos. El método es muy factible; se ha informado un número de ejemplos de imitación de epítopos en moléculas como el antígeno de superficie de la hepatitis B y toxinas asesinas de levaduras.

Cada linfoma de células B produce una única inmunoglobulina característica, cuyas regiones hipervariables son blancos con características singulares para la inmunoterapia. Resulta alentador que luego de muchos años de trabajo arduo se haya alcanzado la protección inmunitaria contra el mieloma con Ig de superficie negativa, con una inyección de vacuna de DNA con la Ig scFv del mieloma unida al fragmento C del toxoide tetánico, que actúa como una señal de peligro para estimular la respuesta anti-Id. Curiosamente, los efectores parecen ser células T CD4 en lugar de CD8.

Los mutantes que perdieron epítopos no deseados pueden plegar en forma correcta epítopos discontinuos para células B deseados

La manera más natural de lograr un epítopo discontinuo de células B configurado en forma correcta es permitir que la proteína se pliegue en forma espontánea. Alcanzamos nuestro objetivo si el gen que codifica el antígeno proteico mutado, de tal forma que se elimine el epítopo no deseado mediante el reemplazo de sus cadenas laterales de aminoácidos, sin afectar el plegamiento de la cadena proteica que genera los epítopos que deseamos conservar. La preservación de los epítopos deseados y la destrucción de los " malos", mediante "lijado genético", puede monitorearse –como es obvio– a través del seguimiento de la reactividad de los mutantes con el anticuerpo monoclonal apropiado (fig. 14-13). Al parecer, los epítopos "malos" para células T también pueden eliminarse por mutaciones dirigidas.

A veces podría ser posible enmascarar un epítopo no deseado al introducir un sitio de glucosilación en la secuencia. En otros casos se podrían eliminar amplios segmentos no deseados del antígeno si la secuencia peptídica remanente todavía puede plegarse en forma correcta. Así, la inmunización mediante el dominio extracelular altamente conservado de la proteína M2 del virus influenza fusionada con el extremo N-terminal de la proteína del antígeno core de la hepatitis B da 90 a 100% de protección contra un desafío letal al virus; teniendo en cuenta la naturaleza conservada del antígeno, esto podría cubrir una variedad de cepas del virus influenza. Asimismo, el fragmento C terminal de 19 kDa aislado de la proteína MSP-1 específica del merozoíto confiere protección mediada por anticuerpos en monos desafiados con el parásito del paludismo en forma hemática.

VACUNAS ACTUALES

Las vacunas establecidas para uso corriente y sus esquemas de administración figuran en los cuadros 14-3 y 14-4.

Debido a reacciones pirógenas y preocupaciones relacionadas con posibles respuestas de hipersensibilidad frente a los componentes de la vacuna con-

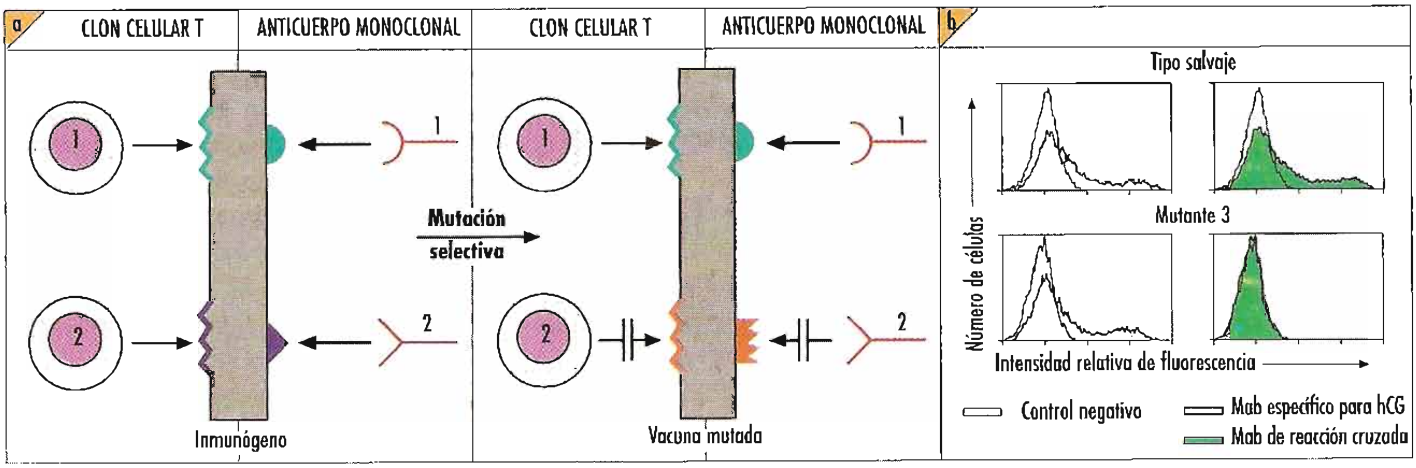


Fig. 14-13. **a) Mutación selectiva de epítopos no deseados (azul oscuro) con retención de los deseados (verde) en una vacuna proteica.** El éxito de la estrategia mutacional se puede monitorear mediante la reactividad con anticuerpos monoclonales (epítopos B) y los clones celulares T (epítopos T). Nuestro grupo de ingeniería de inmunoproteínas del University College de Londres utilizó esta estrategia para mutar la gonadotrofina coriónica humana β (β-hCG) de modo que retenga los epítopos específicos de β-hCG pero pierda los que comparte con la hormona luteinizante humana (hLH). La β-hCG fue investigada como vacuna anticonceptiva para contribuir al control de la natalidad, ya que los anticuerpos anti β-hCG neutralizan la hormona y previenen el embarazo exitoso. Sin embargo, la producción de anticuerpos contra la hLH no es deseable, porque esta hormona está presente todo el tiempo y no sólo en el embarazo, al contrario de la hCG (véase fig. 17-21). Los epítopos mutantes (naranja) evitan la reactividad cruzada con la LH. El extremo C-terminal de la construcción puede extenderse para que codifique epítopos transportadores adecuados para células T helper. Para simplificar se ha ignorado el reconocimiento del péptido del CMH por las células T. **b)** Análisis FACS de las células transfectadas, para expresar β-hCG en su superficie, que muestra un mutante que retiene el epítopo específico de β-hCG, pero que perdió los epítopos de reacción cruzada característicos de la proteína de tipo salvaje.

Cuadro 14-3. *Vacunas actuales y experimentales*

Tipo	Establecidas	Experimentales
VACUNAS BACTERIANAS		
Cepas vivas atenuadas	*Mycobacterium tuberculosis* (BCG)	• *Vibrio cholerae* • *Salmonella typhi* (Ty2 a: mutanteVi$^-$) • *S. typhi* (aroA: mutante de la vía aromática)
Cepas inactivadas	*V. cholerae* *B. pertussis* *S. typhi*	• *V. cholerae* + subunidad de la toxina B *M. leprae*
Subunidades	*Haemophilus influenzae* *Neisseria meningitidis* *Streptococcus pneumoniae*	*S. typhi* (transportador de Vicapsular) *H. influenzae* (toxoide dif/tet) *M. tuberculosis* (DNA desnudo)
Toxoide	Tétanos, difteria	
VACUNAS ANTIVIRALES		
Cepas vivas atenuadas	Vacuna Sarampión Parotiditis Rubéola • Poliomielitis (Sabin) Varicela zoster • Adenovirus Fiebre amarilla	Citomegalovirus Hepatitis A Influenza Dengue • Rotavirus Parainfluenza Encefalitis japonesa
Cepas inactivadas	Poliomielitis (Salk) Influenza Rabia Encefalitis japonesa Hepatitis A	
Subunidades	Hepatitis B, influenza	HIV, influenza, hepatitis B/C, herpes, citomegalovirus, rabia (todas de DNA desnudo en animales de experimentación)

• Administración oral

Cuadro 14-4. *Prácticas actuales de vacunación*

VACUNA		ADMINISTRACIÓN		
		GRAN BRETAÑA	ESTADOS UNIDOS	OTROS PAÍSES
NIÑOS				
Vacuna triple (DTP): difteria, tétanos, coqueluche	Primera dosis	2- 6 meses (3 veces/ cada 4 semanas)		Japón: 2 años
	Refuerzo DT	3-5 años	15 meses/ 4 años DT cada 10 años	
Polio: virus vivos	Primera dosis	Al mismo tiempo que DTP		
	Refuerzo	4-6 años	15 meses, 4 años adultos de alto riesgo	
virus muertos		Inmunocomprometidos		
Vacuna MMR: sarampión, parotiditis, rubéola	Primera dosis	12-15		África: 6 meses
	Refuerzo	4-5 años 10-14 años selectivamente contra rubéola en niñas seronegativas		
BCG (TB, lepra)		10-14 años	sólo cuando hay alto riesgo	Trópicos: al nacer
Haemophilus		Al mismo tiempo que DTP		
Varicela		Recién nacidos en riesgo, inmunocomprometidos		
MAYORES				
Serotipos de polisacáridos neumocócicos		Ancianos y de alto riesgo		
Influenza		Ancianos y de alto riesgo		
GRUPOS ESPECIALES				
Hepatitis B		Viajeros, grupos de alto riesgo		
Hepatitis A Meningitis (A + C)		Viajeros a regiones endémicas		
Fiebre amarilla Fiebre tifoidea		Viajeros a regiones endémicas		Trópicos: niños Fiebre amarilla: refuerzo a los residentes y visitantes frecuentes cada 10 años
Rabia		Profilácticamente en grupos de alto riesgo Luego de exposición a contactos en regiones endémicas		

vencional antipertussis con células enteras, en los Estados Unidos se aprobó una nueva generación de vacunas que contiene uno o más de los componentes purificados de *Bordetella pertussis*, por tanto reciben la denominación de "vacunas acelulares".

La combinación de los toxoides diftérico y tetánico con antipertusis acelular (DTP) se recomienda para las últimas cuarta y quinta "dosis de refuerzo" como también para niños con alto riesgo de convulsiones. Los niños menores de 2 años responden en forma inadecuada al polisacárido capsular de *H. influenzae* que no depende de las células T, de modo que ahora son inmunizados en forma sistemática con el antígeno conjugado con toxoide tetánico o diftérico.

El resurgimiento de brotes de **sarampión** en los años recientes impulsó a recomendar la reinmunización de los niños al ingreso escolar o al iniciar la enseñanza media. La considerable morbimortalidad que se asocia con la infección por hepatitis B, su epidemiología compleja y las dificultades para identificar a los individuos de alto riesgo condujo a recomendar la vacunación en el grupo de edades comprendidas entre los 6 y los 18 meses.

Los anticuerpos IgG provenientes de la madre pueden inhibir *de novo* las respuestas inmunes mediante un control de retroalimentación (véase pág. 226). Los resultados preliminares sugieren que los niños de 4 a 6 meses pueden manifestar seroconversión con vacunas antisarampionosas inhaladas mediante aerosoles, que presumiblemente evaden los anticuerpos maternos; esto tendrá una relevancia singular en las áreas endémicas de sarampión, en las que la mayoría requiere una segunda dosis por inmunización convencional ya que los anticuerpos adquiridos en forma pasiva desaparecen. Las vacunas de DNA desnudo pueden desempeñar también aquí, un papel destacado.

La **tuberculosis** es la causa principal de muerte en el mundo por enfermedad infecciosa aislada, mientras que en los países en desarrollo permanece como un problema realmente importante, el número de casos aumentó alrededor de un tercio en los países occidentales. El incremento de la susceptibilidad a la TB en los individuos con HIV es alarmante, además están apareciendo en todo el mundo cepas con resistencia a múltiples fármacos. Por lo tanto, aunque durante los últimos 70 años se ha utilizado la BCG y tiene una eficacia razonable y segura en los sujetos sanos sin deficiencias de células T, hay por cierto una necesidad vital de desarrollar nuevos fármacos y vacunas. Está por verse si el decepcionante grado de protección contra el TB y *Mycobacterium leprae* obtenidos con la BCG en los ensayos de campo en ciertas partes del mundo se debe al uso de altas dosis, cepas deficientes o alteraciones de la respuesta frente a antígenos del grupo i que reaccionan en forma cruzada, aportados por especies de micobacterias supresoras en el medio ambiente local.

VACUNAS EXPERIMENTALES EN DESARROLLO

Paludismo

No debe despreciarse la baja tecnología. El principal avance en el control del paludismo fue el hallazgo de que la impregnación de tules utilizados como mosquiteros de camas, con un insecticida piretroide, reduce la mortalidad por *Plasmodium falciparum* en un 40%. Sin embargo, con la aparición de cepas de mosquito resistentes a las sustancias químicas se hace necesario desarrollar vacunas. El objetivo se puede alcanzar, ya que aunque los niños son muy susceptibles, los adultos residentes en áreas muy endémicas adquieren una inmunidad protectora pero no esterilizante, tal vez mediada por anticuerpos específicos para los estadios hemáticos.

La variación antigénica es un gran problema para el desarrollo de las vacunas; algunos investigadores en el campo del paludismo centraron su atención en los antígenos invariables del **esporozoíto**, que es la forma infectante inicial para el huésped; alcanza el hígado con rapidez y emerge luego como merozoítos que infectan los glóbulos rojos (fig. 14-14). Ya que el

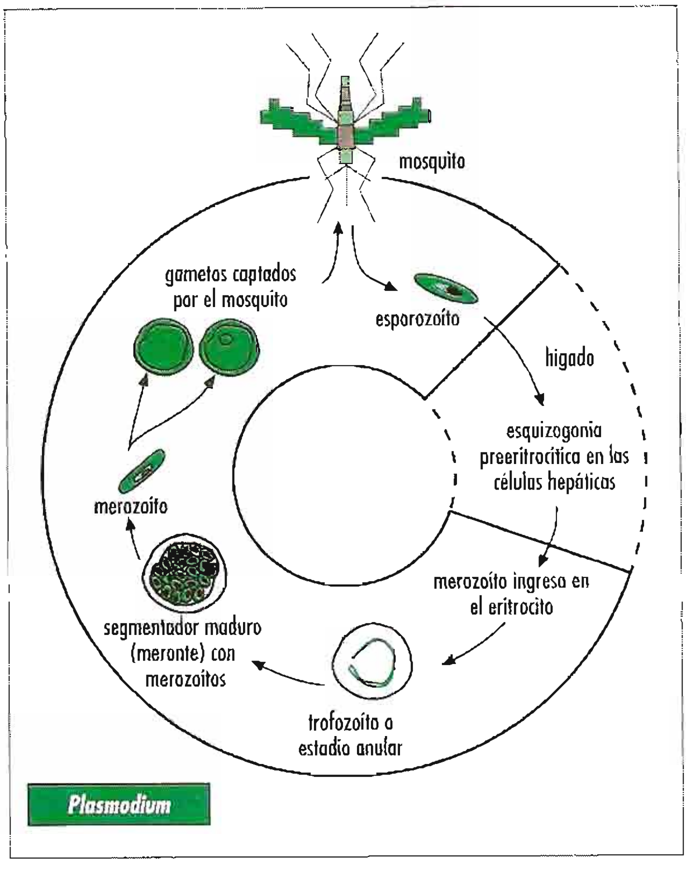

mosquito
gametos captados por el mosquito
esporozoíto
hígado
esquizogonia preeritrocítica en las células hepáticas
merozoíto ingresa en el eritrocito
trofozoíto o estadio anular
segmentador maduro (meronte) con merozoítos
merozoíto
Plasmodium

Fig. 14-14. Ciclo vital del parásito causante del paludismo.

esporozoíto sólo tarda 30 minutos en alcanzar el hígado, los anticuerpos deben actuar rápido, ya que la inactivación está limitada por fenómenos de difusión y, en consecuencia, depende de la concentración de las moléculas de anticuerpo. El esporozoíto posee un antígeno característico con múltiples repeticiones de tetrapéptidos. *Plasmodium falciparum*, por ejemplo, tiene 37 repeticiones de NANP. Los ensayos de campo con vacunas que contienen polímeros de NANP y tetrapéptidos similares de otras especies por el momento no lograron un éxito espectacular, pero aumentaría su eficacia si se construyesen en el entorno de una fuerte cooperación de células T bajo la forma del epítopo promiscuo 378-398 (véase pág. 334) o con el transportador de la proteína del choque térmico hsp70 de las micobacterias (lo que elimina la necesidad de adyuvantes). Los ratones inmunizados con esporozoítos atenuados por radiación o proteínas de circumesporozoítos ligadas a *Salmonella* atenuadas resistieron el desafío con esporozoítos vivos, lo que debería ser útil para viajeros no inmunizados que visitan áreas donde el paludismo es endémico. La inmunidad es mediada por células CD8 no citotóxicas que se dirijen a los hepatocitos infectados mediante la producción de IFNγ, NO e IL-12, esta última inicia un circuito de retroalimentación positiva por el estímulo de la secreción de IFNγ por las células NK.

Muchos laboratorios de investigación centraron sus esfuerzos sobre los distintos antígenos asociados con los **estadios hemáticos**; se dio mucha publicidad a los ensayos que utilizaron la vacuna SPf66, constituida por tres epítopos peptídicos de tres proteínas del estadio hemático intercaladas con secuencias NANP. En un comienzo se obtuvo una clara protección en ensayos en gran escala en Sudamérica, pero dos ensayos posteriores en otras partes del mundo lamentablemente resultaron ineficaces. El fragmento C-terminal de la proteína específica del merozoito, $MSP\text{-}1_{19}$, antes mencionada, es promisorio. Uno de los productos de los eritrocitos infectados es un glucofosfolípido con características de segundo mensajero de la insulina. Esta sustancia podría ser responsable de muchas de las características secundarias del paludismo al actuar como un estimulador de la producción excesiva de TNF. Una estrategia basada en el uso de esta molécula como vacuna sería semejante al método bien establecido que se sigue en el tétanos y en la difteria, en los que se ataca la toxina en lugar del microorganismo. Otros grupos de investigación centran su atención en los antígenos que inducen anticuerpos capaces de **bloquear la transmisión** (véase fig. 14-15); éstas serían vacunas altruistas, ya que primero sólo ayudan al individuo que sigue en la cadena de transmisión y por último a la comunidad entera.

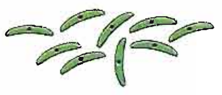
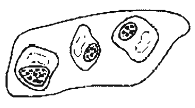
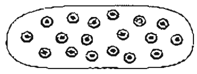
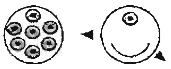
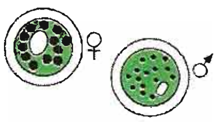
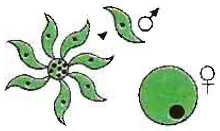
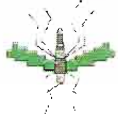
ESTADIO	VACUNA	ESTRATEGIA
 ESPOROZOÍTOS	PROTEÍNA O PÉPTIDOS DEL CIRCUMESPOROZOÍTO (CS)	Ac bloquea la infección del hígado
 ESTADIO HEPÁTICO	PROTEÍNA O PÉPTIDOS DE CS	La inmunidad mediada por células T destruye el estadio hepático
 MEROZOÍTOS	ANTÍGENOS DEL MEROZOÍTO	Bloqueo de la infección eritrocítica
 ESTADIO ERITROCÍTICO ASEXUADO ANTIGENO TOXICO	ESTADIO ERITROCÍTICO ASEXUADO	Destruye las células infectadas
	PRODUCTO TÓXICO	Ac neutraliza la toxina
 GAMETOCITOS	ESTADIOS SEXUADOS	Ac bloquea la transmisión
 GAMETOS		
 MOSQUITO	TRIPSINA DEL MOSQUITO	

Fig. 14-15. Estrategias para elaborar una vacuna antipalúdica. Una vacuna que incorpora un polipéptido derivado de una levadura, que es el antígeno cigotoespecífico Pfs25, el cual puede inducir anticuerpos bloqueantes de la transmisión, parece ser la próxima candidata para los ensayos de campo en gran escala sobre eficacia. Si los anticuerpos contra la tripsina del intestino medio del mosquito se introducen en la ración de sangre junto con los gametocitos, bloquearán la activación mediada por tripsina de la enzima proquitinasa, necesaria para la penetración de la capa de quitina que tapiza el intestino medio por parte de los oocinetos (diferenciados a partir del estadio de gametocitos).

En la figura 14-5 se presenta un pequeño resumen de las diferentes estrategias de vacunas que se desplegaron para controlar a este parásito complejo; podría haber acuerdo de que, en última instancia, las vacunas contendrán antígenos de todos los estadios tal vez presentados como una mezcla del DNA desnudo de los genes que los codifican.

Quizá haya llegado el momento de introducir un ataque radical y nuevo sobre el problema, dejando de lado los estudios relativamente pequeños en curso. Se propuso un método de identificación de los candidatos para la vacuna protectora de esporozoítos, que, por su envergadura, requiere una fuerte inversión gubernamental del dinero de los contribuyentes. La estrategia contempla los siguientes pasos 1) identificar los supuestos marcos abiertos de lectura (ORF) de la secuencia genómica de los parásitos, 2) inmunizar los ratones con vacunas de plásmidos de DNA derivado de cada ORF, 3) utilizar el antisuero para detectar los hepatocitos infectados por esporozoítos irradiados, 4) seleccionar los plásmidos demostrados por el proceso de selección, para codificar los antígenos expresados en los hepatocitos; 5) predecir los epítopos para células T degenerados que se ligan a la superfamilia de HLA, 6) validarlos como blanco de las respuestas CD8 en voluntarios inmunizados con esporozoítos irradiados, 7) añadir los epítopos para células T resultantes, juntos en un solo plásmido. ¡No es poco! Este "gran cuadro" estilo posgenoma humano bien podría ser el anteproyecto del futuro.

Esquistosomiasis

La morbilidad de esta enfermedad crónica y debilitante se relaciona con la fecundidad notable del verme hembra, que deposita cientos de huevos por día. Estos son colocados sobre las mucosas y tejidos, y los granulomas que se forman alrededor de ellos (véase fig. 16-28) ocasionan lesiones fibróticas graves, a menudo irreversibles. La IgE específica puede dañar al helminto mediante mecanismos de citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (véase pág. 34 y fig. 13-22), en la que participan eosinófilos y posiblemente fagocitos mononucleares como células efectoras, lo que puede considerarse un factor en la recuperación de la infección junto con la IMC a cargo de los Th1, teniendo en cuenta que los esquistosomas son susceptibles a los efectos letales del NO producido por los macrófagos activados. Los anticuerpos IgE, IgG e IgA se correlacionan con la resistencia a la reinfestación en los pacientes curados con fármacos, mientras que la IgA parece controlar la fecundidad, como demuestran los experimentos de transferencia pasiva. Nuestra capacidad para estimular los anticuerpos IgE y, en menor grado, IgA a voluntad aún está, con cierta indulgencia, algo subdesarrollada, pero es alentador destacar que un anticuerpo monoclonal contra la glutatión-*S* transferasa de *S. mansoni* inhibe la enzima, protege frente a la exposición y reduce en forma espectacular el depósito y la viabilidad de los huevos. Otro anticuerpo monoclonal protector contra un epítopo diferente no tiene efecto sobre la actividad enzimática o la producción y viabilidad de los huevos, pero reduce la carga de helmintos. La enzima recombinante, que es posible que integre un cóctel con otros antígenos del esquistosoma y proteasas de cercaria, podría ser una vacuna promisoria para el futuro.

Cólera

En el caso del **cólera** se informó en un gran ensayo de campo en Bangladesh que una vacuna oral, que combina la subunidad B de la toxina colérica con vibriones muertos, estimula una excelente formación de anticuerpos en la mucosa intestinal; en apariencia igual a la observada durante el cólera clínico. La vacuna también proporciona protección cruzada contra la enterotoxina de *E. coli*, responsable de la diarrea del viajero.

Tuberculosis

Se están desarrollando extensos ensayos de campo con el agente no virulento *Mycobacterium vaccae*, que utilizan microoorganismos muertos y generan respuestas Th1 potentes. Para obviar los potenciales efectos adversos de la vacuna BCG con microorganismos vivos en sujetos inmunodeficientes (p. ej., individuos HIV positivos), mediante mutagénesis por inserción se crearon cepas auxótrofas que no pueden crecer en ausencia de aminoácidos esenciales, como metionina y leucina. En los ratones estas cepas mueren en 16 a 32 semanas y los ratones con inmunodeficiencia combinada grave sobrevivieron al menos 230 días, en comparación con las 8 semanas que permitía la vacuna BCG convencional. Estas cepas auxótrofas brindaron una excelente protección ante la exposición a bacilos virulentos; por lo tanto ofrecen una vacuna potencialmente segura contra la TB en aquellas poblaciones en riesgo de infección por HIV.

En el nivel de las subunidades, como se podría anticipar ahora, se están desarrollando vacunas con DNA desnudo contra proteínas del choque térmico y otros antígenos de micobacterias comunes, que parecen ser altamente efectivos al menos en ratones.

ADYUVANTES

La inmunización profiláctica, por razones económicas y prácticas, debería comprender un número mínimo de inyecciones y la menor cantidad posible de antígeno. Al respecto nos hemos referido a las indudables ventajas de la replicación de microorganismos atenuados, pero los microorganismos muertos y en especial los productos purificados, requieren con frecuencia un adyuvante, que por definición es una sustancia incorporada al antígeno o inyectada en forma simultánea con él, que potencia la respuesta inmune (del latin *adjuvare* - ayudar). Es un hecho interesante que las estructuras bacterianas proporcionen la fuente principal de inmunoadyuvantes, quizá porque otorgan señales de peligro de infección y no es accidental que pueda ser tan efectiva la incorporación del "transportador" del gen que codifica un inmunógeno en una *Salmonella* atenuadas y BCG. En cierto sentido, la base de la capacidad del adyuvante a menudo es el reconocimiento de estas señales por los receptores filogenéticamente ancestrales en las células accesorias. El mecanismo de acción de los adyuvantes se puede considerar bajo distintos encabezamientos.

Efectos de depósito

El antígeno libre por lo general se dispersa con rapidez desde los tejidos locales, que drenan el sitio de inyección; una función importante de los denominados adyuvantes de depósito es impedir esto al proporcionar un reservorio antigénico de duración prolongada, ya sea con localización extracelular o dentro de los macrófagos. Los adyuvantes más comunes de este tipo que se utilizan en seres humanos son los **compuestos de aluminio** (fosfato e hidróxido). Hace tiempo que se conoce, aunque en forma empírica, que las sustancias hidrófobas tienden a aumentar las respuestas inmunes; el adyuvante incompleto de Freund, en el que se incorpora el antígeno en la fase acuosa de una emulsión estabilizada de aceite de parafina en agua, por lo general produce niveles de anticuerpos mucho más elevados y duraderos, con ampliación de la respuesta para incluir varios de los epítopos en la preparación antigénica. Sin embargo, a causa de la persistencia prolongada del aceite en los tejidos y la producción ocasional de abscesos estériles, además del hecho inaceptable de que el aceite de parafina produce tumores en ratones, se ha considerado el reemplazo del adyuvante incompleto de Freund por diferentes tipos de aceites, como el escualeno o el aceite de maní biodegradable. Es un hecho tranquilizador que los análisis recientes de estudios en gran escala con vacunas que contienen aceites minerales emulsificados, llevados a cabo hace 30 a 40 años, demostraran que esos procedimientos no aumentan la incidencia de neoplasias o de enfermedad autoinmune.

Activación de células presentadoras de antígeno

Bajo la influencia de los adyuvantes de depósito, los macrófagos forman granulomas que proporcionan sitios para la interacción con las células formadoras de anticuerpos. El mantenimiento de concentraciones uniformes de antígenos por el depósito asegura que, a medida que las células sensibles al antígeno se dividen dentro del granuloma, su progenie tenga altas probabilidades de ser estimulada con posterioridad por el antígeno. Casi todos los adyuvantes transportan antígenos a las células presentadoras de antígenos y las estimulan lo que mejora la inmunogenicidad, mediante el aumento de la concentración del antígeno procesado en su superficie y de su eficiente presentación a los linfocitos, lo que proporcionan señales coestimuladoras accesorias para dirigir los linfocitos hacia una respuesta inmune y no hacia la tolerancia, y por la secreción de citocinas estimuladoras solubles, que influyen sobre la proliferación de los linfocitos. Por ejemplo, la hsp70 de la micobacteria, más allá de su capacidad para actuar como un transportador potente, presenta una habilidad adyuvante innata (fig. 14-7) mediada por el aumento de la regulación de la expresión de citocinas proinflamatorias, TNF, IL-1β e IL-6 a través de la vía CD14/NFκB. El lípido A del lipopolisacárido de las bacterias gramnegativas (LPS) es uno de los estimuladores más potentes de las células presentadoras de antígenos, pero como tiene muchos efectos colaterales el interés se centró en su derivado, el lípido A monofosforilado (MLA), que es menos tóxico. El **adyuvante Ribi** es quizá una de las formulaciones de uso más común en trabajos experimentales (y, con optimismo, en seres humanos), consiste en una emulsión acuosa en aceite que incorpora el MLA y un derivado del MDP (véase más adelante).

Efectos sobre los linfocitos

En los ratones el aluminio tiende a estimular las células helper de la familia Th2, mientras que el adyuvante de Freund completo favorece el subtipo de Th1. Debe recordarse que el adyuvante de Freund completo se elabora a partir del incompleto con la adición de micobacterias muertas (véase pág. 216), pero los efectos inmunopatológicos del componente micobacterias son tan contundentes que por lo

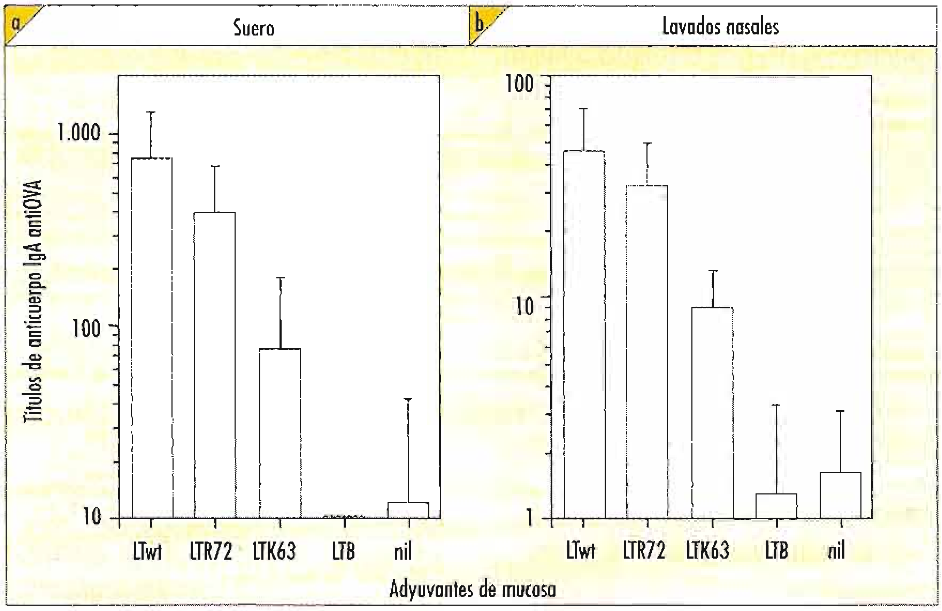


Fig. 14-16. Capacidad del poder adyuvante de la mucosa de la enterotoxina termolábil con toxicidad reducida de *E. coli* (LT). Títulos de anticuerpos específicos antiovoalbúmina de tipo IgA (media + DE) en ratones inmunizados tres veces por vía intranasal con ovoalbúmina sola o combinada con el tipo salvaje de LT (LTwt), un mutante A→R de la cadena A en posición 72 (LTR72), que retiene sólo un 0,6% de la actividad tóxica de la ADP-ribosiltransferasa, un mutante no tóxico S →K de la cadena A en posición 63 (LTK63) y la cadena B recombinante (LTB) que hace blanco en el sitio de ligadura del receptor al monosialogangliósido (GMI). LTR72 tiene capacidad de adyuvancia comparable al LTwt pero muy baja toxicidad (LTwt es responsable de la diarrea del viajero). Se obtienen títulos de anticuerpos aun mayores a partir de lavados pulmonares, y cantidades menores de lavados vaginales (datos de Giuliani MM *et al.* [1998] *Journal of Experimental Medicine* 187, 1123, reproducido con autorización).

común su uso no se tolera en seres humanos; felizmente se identificó el componente activo como el **muramildipéptido** hidrosoluble (MDP; *N*-acetilmuramil-L-alanil-D-isoglutamina) y ahora se dispone de algunos derivados aceptables. Los análogos hidrófilos de MDP con antígenos acuosos estimulan de manera preferencial las respuestas de anticuerpos, pero si se administran en un microambiente hidrófobo, como el aceite mineral, o se incorporan en liposomas, dan como resultado principal una respuesta de IMC.

El papel de las citocinas moduladoras en estas interacciones inmunitarias tempranas es importante; algunos trabajos experimentales investigan el efecto de las citocinas administradas en forma simultánea con el antígeno. En un estudio, una construcción del *f*actor *e*stimulador de *c*olonias de *g*ranulocitos-*m*acrófagos (GM-CSF) unido a una inmunoglobulina monoclonal indujo respuestas antiidiotípicas relevantes en el tratamiento de la leucemia linfocítica crónica. La IL-2 tiene una actividad adyuvante en los pacientes leprosos que no responden al tratamiento. Una sola inyección en los pacientes en diálisis indujo en forma efectiva la seroconversión contra el antígeno de superficie de la hepatitis B. También se investiga en forma activa el potencial de la IL-12 para inducir las respuestas de tipo Th1.

La necesidad de adyuvantes que estimulen la inmunidad de las mucosas se está aprovechando por la capacidad de la enterotoxina termolábil de *E. coli* (LT) y de la toxina colérica para hacer blanco en las células intestinales. La LT es muy inmunógena cuando se administra por vía oral, por lo que se desarrolló un mutante no tóxico, de potencia comparable como adyuvante (fig. 14-16), para que sea aplicado en seres humanos. El acoplamiento de un antígeno proteico a la subunidad B de la toxina colérica dirige la vacuna a las células epiteliales del tracto intestinal y por lo general produce una buena respuesta de anticuerpos IgG e IgA, que también aparecen en la saliva, las lágrimas y la leche, lo que indica que las células precursoras de IgA específicas de antígeno se diseminan por todo el sistema MALT. Todavía persiste el interrogante de si la respuesta inmune ante el cólera excluye el uso de la toxina como un transportador para la posterior inmunización con más antígenos. Con respecto a la toxina del cólera, se informó que un antígeno soluble, como el toxoide diftérico, aplicado a la piel del ratón junto con la toxina de cólera, producen un aumento persistente de niveles de IgG, resultado aún no del todo predecible.

Nuevos enfoques sobre la presentación del antígeno

En época reciente el interés se centró en el uso de pequeñas vesículas con membrana lipídica **(liposomas)** como agentes para la presentación del antígeno al sistema inmune. Puede ser que el liposoma actúe como una vacuola de depósito dentro del macrófago o quizá se fusione con su membrana, para proporcionar un complejo inmunógeno adecuado. Los diferentes mecanismos para procesar péptidos dentro de las células presentadoras de antígeno pueden aprovecharse de modo ventajoso si el antígeno se encapsula en liposomas acidorresistentes, de manera que sólo puedan acceder a las moléculas CMH clase I y estimular las células T CD8. Los antígenos dentro de liposomas acidosensibles se asocian con ambas clases de moléculas del CMH, clases I y II. Las proteínas ancladas en la membrana lipídica por medios hidrófobos estimulan el aumento de la IMC. Los péptidos sintéticos cortos acoplados en forma covalente al lípido A monofosforilado o a la tripalmitoil-S-gliceril-cistenil-seril-serina (P3CSS) presentan una alta eficacia programadora. Es fácil imaginar la posibilidad de una dosis única de vacuna liposómica con múltiples potencialidades, que incorpore varios antígenos, diferentes adyuvantes y moléculas orientadoras especializadas (fig. 14-17).

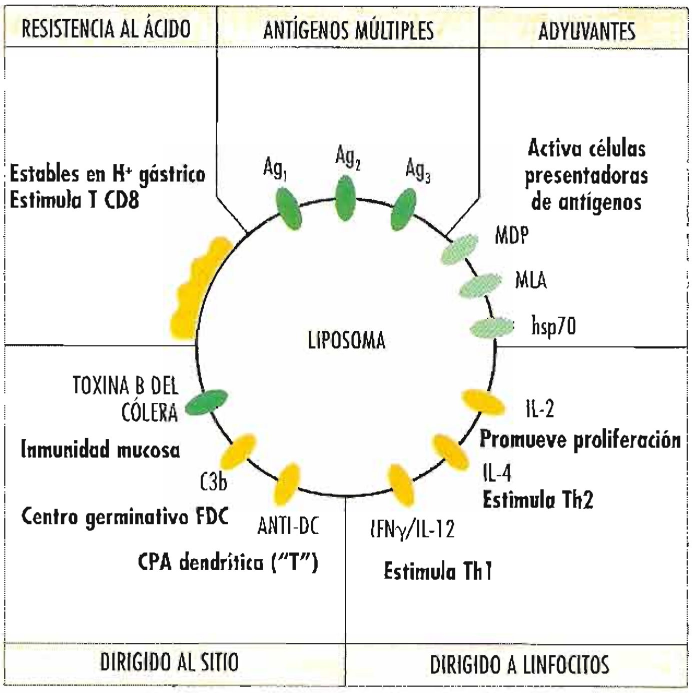


Fig. 14-17. **La partícula de liposoma omnipotente "haga todo en uno"** ilustra algunos de los caminos posibles para lograr flexibilidad inmunógeno en una vacuna de liposomas de dosis única. El interior del liposoma también puede contener depósitos de algunos componentes. MDP, muramildipéptido; MLA, lípido A monofosforilado; hsp 70, proteína del choque térmico de las micobacterias.

Otra innovación es el **Iscom** (complejo inmunoestimulador), una matriz hidrófoba del surfactante saponina, con antígeno, colesterol y fosfatidilcolina. Los antígenos con una región transmembrana hidrófoba, como las moléculas de superficie de los virus con contenido lipídico, son inmunogénos potentes en este vehículo y pueden generar respuestas de células T citotóxicas. Los Iscom son resistentes en extremo a los ácidos y sales biliares; son inmunógenos por vía oral, y producen inmunidad sistémica y una buena respuesta local de IgA secretora. En el ratón, la administración intranasal estableció una inmunidad protectora contra el virus de la influenza. La saponina, purificada en un comienzo a partir de la corteza del árbol *Quillaja saponaria*, es por sí misma muy tóxica para su uso en seres humanos. Un derivado menos tóxico, el Quil A, es ampliamente utilizado en vacunas de uso veterinario; otro derivado, menos tóxico aún, el QS21, está en evaluación, mediante ensayos clínicos, en relación con su eficacia y seguridad. Es probable que sean aceptados para uso en seres humanos otro grupo de adyuvantes surfactantes, como los copolímeros no iónicos en bloque, que poseen un núcleo hidrófobo de polioxipropileno unido a polímeros hidrófilos de polioxietileno.

Puede ser útil centrarse en el concepto expuesto antes de que los antígenos poliméricos tienden a ser más inmunógenos y prestar atención a una forma novedosa de matriz sólida proveniente de las cepas Cowan de *S. aureus*, que puede fijar varias moléculas de anticuerpos monoclonales y éstos, a su vez, inmovilizar varias moléculas de antígeno. Mediante el uso de diversos anticuerpos monoclonales se pueden purificar los antígenos apropiados en sus sitios de unión, a partir de una mezcla, para lograr una vacuna de subunidades multivalente. También podrían incorporarse mutaciones de la enterotoxina de *E. coli*, antes mencionada, para proporcionar una buena inmunidad en el nivel de las mucosas.

En relación con la conveniencia y practicidad de la administración de vacunas, no deberíamos ignorar el uso de la **pistola biolística** (véase pág. 157) para introducir microesferas de oro recubiertas con plásmidos del gen que codifica el o los antígenos de la vacuna (véase pág. 330).

Existen importantes avances en el diseño de sistemas de liberación controlada para la distribución del antígeno in vivo. Los polímeros de los ésteres poliláctico/poliglicólico son vehículos biodegradables no tóxicos, que pueden prepararse en una mezcla de diferentes formulaciones para proporcionar la **liberación lenta** de un antígeno (o de un fármaco activo u hormona) por períodos de hasta varios meses.

Quedan por delante momentos excitantes para el desarrollo de vacunas, pero siempre se debería tener en la mente que no importa cuán exitosas resulten estas inteligentes estrategias en los animales de experimentación, la prueba crítica, que destruye tantos métodos promisorios, es el efecto en el largo plazo en el ser humano.

RESUMEN

Inmunidad adquirida en forma pasiva

- La inmunidad pasiva se puede adquirir por anticuerpos maternos o a partir de una mezcla de γ-globulinas homólogas.
- Los antisueros de caballo están más restringidos, debido al peligro de la enfermedad del suero.
- Los anticuerpos según demanda se elaboran mediante tecnología de DNA recombinante y se pueden producir en forma masiva en plantas.

Vacunación

- La inmunización activa proporciona un estado de protección a través del contacto con una forma inocua del microorganismo causante de la enfermedad.
- Una buena vacuna debería basarse en antígenos que sean fáciles de obtener, económicos, estables bajo condiciones climáticas extremas y no patógenos.

Vacunas con microorganismos muertos

- Se han utilizado extensamente bacterias y virus muertos.

Microorganismos vivos atenuados

- Sus ventajas son: la replicación aumenta la dosis y que la respuesta inmune es producida en el sitio de la infección natural.
- El virus vacuna o el de la polio atenuados pueden proporcionar un "transportador" para genes de otros microorganismos que son difíciles de atenuar.
- La BCG es un buen vehículo para los antígenos que requieren inmunidad mediada por células T CD4. Las construcciones con salmonelas proporcionarían inmunidad oral y sistémica. La inmunización intranasal está ganando popularidad con rapidez.
- El riesgo con los microorganismos vivos atenuados es la reversión hacia formas virulentas y el peligro para los individuos inmunocomprometidos.

Vacunas de subunidades

- Los microorganismos completos poseen múltiples antígenos, algunos de los cuales no son protectores, pueden inducir hipersensibilidad o incluso ser francamente inmunosupresores.
- En estos casos lo más sensato es utilizar componentes purificados.
- Se ha incrementado el uso de la tecnología de DNA recombinante para producir estos antígenos. La expresión en bananas otorga una forma muy económica de inmunización oral en los países en desarrollo.
- El DNA desnudo que codifica la subunidad de la vacuna se puede inyectar en forma directa en el músculo, donde expresa la proteína y produce la respuesta inmune. Las ventajas son la estabilidad, la facilidad de la producción y la economía.
- Las vacunas con epítopos específicos basadas en estructuras conservadas tienen la ventaja de que pueden proporcionar una amplia protección y evitar los posibles efectos deletéreos de otros epítopos (autoinmunidad, inhibición T, pecado original antigénico, evasión mediante mutación de epítopos inmunodominantes) cuando se utilizan ciertos antígenos completos para la inmunización.
- Las vacunas con epítopos específicos pueden basarse en péptidos, antiidiotipos de imagen interna o mutantes con pérdida de epítopos.

- Los péptidos pueden imitar la proteína nativa, para que la vacuna produzca anticuerpos de manera útil si el epítopo es lineal y de estructura relativamente libre. Para convertir el péptido en inmunógeno, se necesitan transportadores como el toxoide tetánico o las proteínas del choque térmico de las micobacterias. Los péptidos lineales pueden remedar a los epítopos para células T en la proteína completa.
- Los mutantes con pérdida de epítopos reemplazaron los epítopos no deseados, pero aun así se pliegan en forma correcta para producir los epítopos discontinuos deseados para células B.

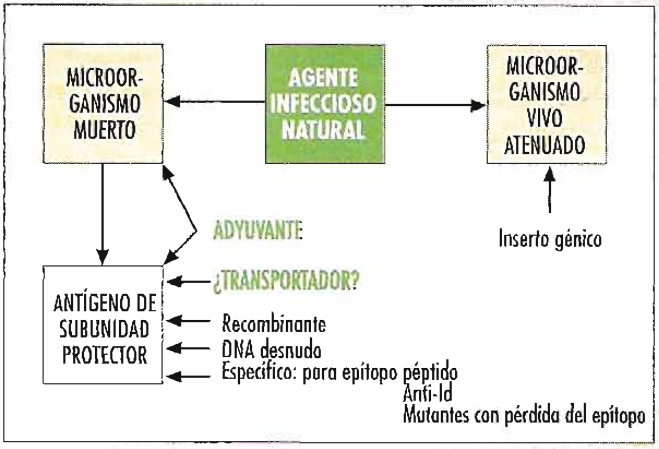

MICROORGANISMO MUERTO
AGENTE INFECCIOSO NATURAL
MICROORGANISMO VIVO ATENUADO
ADYUVANTE
Inserto génico
¿TRANSPORTADOR?
ANTÍGENO DE SUBUNIDAD PROTECTOR
Recombinante
DNA desnudo
Específico: para epítopo péptido
Anti-Id
Mutantes con pérdida del epítopo

Fig. 14-18. Estrategias de vacunación.

Vacunas actuales

- En los Estados Unidos y Gran Bretaña los niños son inmunizados de manera sistemática con toxoides diftérico, tetánico y con componentes pertúsicos purificados (vacuna triple DTP) y con cepas atenuadas de los agentes etiológicos del sarampión, la parotiditis, la rubéola (MMR) y la polio. La BCG se administra entre los 10 y los 14 años.
- Se están introduciendo vacunas de subunidades de pertussis que carecen de efectos colaterales.
- El polisacárido capsular de *H. influenzae* tiene que ser ligado a un transportador.
- Los ancianos reciben vacunas contra el virus influenza y de polisacáridos de los *Pneumococos*.
- Para los viajeros y la población de alto riesgo se dispone de vacunas contra la hepatitis A y B, la meningitis, la fiebre amarilla, la fiebre tifoidea, el cólera y la rabia.

Vacunas en desarrollo

- En el paludismo las vacunas experimentales están dirigidas contra los *estadios sanguíneo y de esporozoíto*, la *toxina* que produce efectos colaterales graves, los *gametos* y la tripsina intestinal del insecto.
- La glutatión-*S*-transferasa recombinante es un candidato promisorio para una vacuna contra la esquistosomiasis.
- Una vacuna oral compuesta por la subunidad B de la toxina colérica y vibriones muertos indujo una buena inmunidad de la mucosa contra el cólera.

Adyuvantes

- Los adyuvantes producen depósitos de antígenos y activan los macrófagos; a veces ejercen un efecto directo sobre los linfocitos.
- Próximamente podrían ser de uso general adyuvantes como los análogos del muramil dipéptido derivado de las paredes celulares de las micobacterias y el lípido A monofosforilado derivado del LPS de los microorganismos gramnegativos.
- Los nuevos métodos de liberación comprenden la unión del antígeno a pequeñas vesículas con cubierta lipídica (liposomas) o a una matriz glucosídica especial (Iscom). Estas partículas de liberación pueden ser dotadas de muchos factores que mejoran su inmunogenicidad y flexibilidad. Se pueden incorporar varios antígenos en la misma partícula, adyuvantes como MDP y MLA, citocinas para inducir respuestas en diferentes subtipos de linfocitos y moléculas como la toxina B colérica y enterotoxina de *E. coli*, dirigidos a sitios corporales determinados.
- Los antígenos incorporados en polímeros biodegradables de diferente vida media pueden proporcionar vacunas de una sola aplicación que remedan un esquema de inmunización convencional en varias dosis.

En la figura 14-18 se resumen las estrategias globales de vacunación.

Véanse preguntas de opciones múltiples en el sitio web correspondiente (www.roitt.com).

CAPÍTULO 15

Inmunodeficiencia

www.el12cirujano.blogspot.com/

Introducción, 347
Deficiencias de los mecanismos inmunes innatos, 347
  Defectos de la célula fagocítica, 347
  Deficiencias del sistema complemento, 349
Deficiencia primaria de células B, 351
  La a-γ-globulinemia ligada al cromosoma X (tipo Bruton) se debe a una falla temprana de la maduración de las células B, 351
  La deficiencia de IgA y la inmunodeficiencia común variable (IDCV) tienen una base genética similar, 351
  La hipo-γ-globulinemia transitoria se observa en etapas tempranas de la vida, 352
Deficiencia primaria de células T, 352
  Algunas deficiencias afectan la diferenciación temprana de células T, 352
  Deficiencias que conducen a células T disfuncionales, 353
Inmunodeficiencia combinada, 354
  Las mutaciones en las vías de señalización de la IL-7 producen IDSC, 355
  La IDSC puede originarse a partir de una recombinación deficiente grosera de *VDJ*, 355
  La IDSC puede deberse a mutaciones en la enzima de la vía de salvataje de la purina, la adenosina desaminasa, 355
  Inmunodeficiencia combinada como resultado del defecto hereditario del control de la función del linfocito, 355
Reconocimiento de las inmunodeficiencias, 356
Inmunodeficiencia secundaria, 356
Síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), 357
  Características clínicas, 357
  Características del HIV, 357
  Historia natural de la enfermedad, 359
  Las características diagnósticas del SIDA son bastante certeras, 361
  Factores que afectan la progresión del SIDA, 361
  Estrategias terapéuticas para controlar el SIDA, 363
Resumen, 364
Lecturas adicionales, 365

INTRODUCCIÓN

De acuerdo con el aforismo que dice "la mayoría de las cosas que pueden salir mal, salen mal", en los seres humanos se reconocieron numerosos estados de inmunodeficiencia que **no son secundarios** a factores medioambientales. Estos "experimentos de la naturaleza" proporcionan indicios valiosos con respecto a la función de los factores defectivos involucrados. Con anterioridad destacamos la manera por la que la interacción del complemento, anticuerpos y células fagocíticas constituyen la base del mecanismo de defensa tripartito contra las infecciones piógenas (formadoras de pus) por bacterias que requieren la opsonización previa, antes de la fagocitosis. No es sorprendente, entonces, que la deficiencia en cualquiera de estos factores pueda predisponer al individuo a infecciones repetidas de este tipo. Los pacientes con deficiencia de células T de hecho presentan un patrón con diferencias marcadas de infección, y son susceptibles a virus y hongos que suelen erradicarse por inmunidad mediada por células (IMC).

En pacientes con inmunodeficiencia se documentó una incidencia relativamente alta de procesos malignos y de autoanticuerpos con enfermedad autoinmune o sin ella quizá debido a la falla en la regulación de células T o a la incapacidad de controlar las infecciones virales principales.

En las secciones siguientes se examinan varias formas de estas **inmunodeficiencias primarias** que tienen una base genética.

DEFICIENCIAS DE LOS MECANISMOS INMUNES INNATOS

Defectos de la célula fagocítica

En la **enfermedad granulomatosa crónica** los monocitos y polimorfonucleares no producen los intermediarios reactivos del oxígeno (fig. 15-1) debido a un defecto en el sistema citocromo b_{558} oxidasa (véase pág. 4) activado en general por la fagocitosis. El citocromo posee subunidades de 92 y 22 kDa y, en la forma ligada al cromosoma X de la enfermedad, hay mutaciones en el gen que codifica la mayor parte de estas subunidades. En la mayoría de los casos, no se producen citocromos, pe-

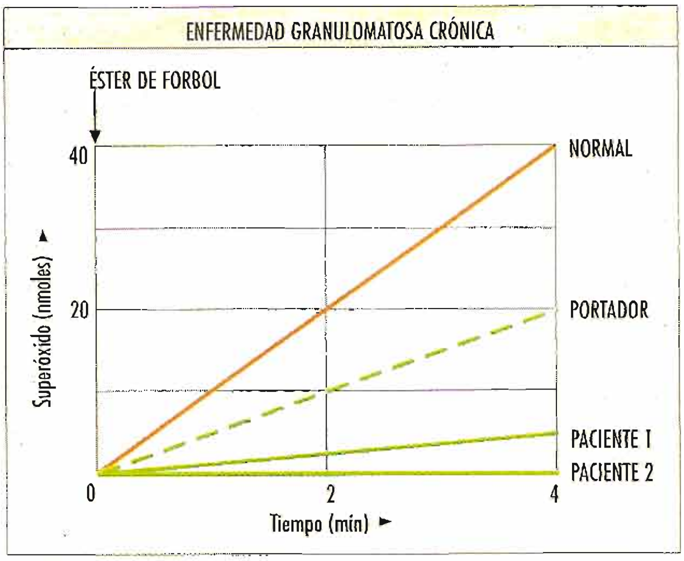


Fig. 15-1. Estallido respiratorio defectuoso en los neutrófilos de pacientes con enfermedad granulomatosa crónica. La activación del NADP/citocromooxidasa está determinada por la producción del anión superóxido ($\cdot O_2^-$; véase fig. 1-10) luego de la estimulación con acetato de forbol miristato. El paciente 2 posee una mutación $p92^{phox}$ que previene la expresión de la proteína, mientras que el 1 presenta la mutación $p92^{phox}$ variante que produce niveles muy bajos pero mensurables. Muchos portadores de la enfermedad ligada al cromosoma X expresan niveles intermedios, como en el individuo mostrado, que es la madre del paciente 2. (Datos de Smith R.M. & Curnutte.T. (1991) *Blood* 77,673.)

ro una mutación gp92 variante permite la síntesis de niveles bajos de la proteína (fig. 15-1) y esta situación puede mejorarse por el tratamiento con interferón γ. El 30% de los pacientes con enfermedad granulomatosa crónica que heredan este trastorno como rasgo autosómico recesivo expresan una forma defectuosa de la oxidasa que es resultado de las mutaciones en la subunidad más pequeña $p22^{phox}$ del citocromo y en los componentes citosólicos $p47^{phox}$ y $p67^{phox}$ (*phox* = oxidasa del fagocito) del sistema oxidasa del fosfato de nicotinamida adenina dinucleótido reducido total (NADPH). Como era de esperar, el noqueo del $gp92^{phox}$ proporciona un modelo murino conveniente (véase fig. 1-10).

Como curiosidad, el espectro de patógenos infecciosos que aquejan a estos pacientes es relativamente restringido. El más común es *Staphylococcus aureus*, pero ciertos bacilos gramnegativos y hongos como *Aspergillus fumigatus* y *Candida albicans*, con frecuencia están involucrados. Los factores subyacentes de esta restricción son dobles. Primero, muchas bacterias ayudan a provocar su propia autodestrucción por medio de la generación de H_2O_2 mediante su propio proceso metabólico, pero si son productores de catalasa, el peróxido se destruye y las bacterias sobrevivirán. Así, los polimorfonucleares de estos pacientes captan con facilidad los estafilococos positivos para catalasa en presencia de anticuerpo y complemento, pero fallan en producir su muerte en el nivel intracelular. Segundo, los microorganismos muy virulentos tienden a ser los que son muy resistentes a los mecanismos microbicidas independientes del oxígeno del fagocito.

La falta de la subunidad CD18 β de las β_2 integrinas produce una **deficiencia de la adhesión leucocítica** que produce una alteración de la quimiotaxis del neutrófilo y una infección bacteriana recurrente. La migración de monocitos, eosinófilos y linfocitos no está afectada, ya que éstos pueden recurrir al sistema de la β_1 integrina alternativo VCAM-1/VLA-4. Dos casos (recuérdese que estas inmunodeficiencias primarias tienden a ser bastante raras) de deficiencia de la adhesión leucocítica asociada con retraso mental y el fenotipo del grupo sanguíneo hh de Bombay presentan movilidad defectuosa de los neutrófilos debido a la falla para producir sialil Lewis^x, los ligandos utilizados para unir las selectinas en las células endoteliales. El defecto en la síntesis del antígeno H del grupo sanguíneo que también es un hidrato de carbono fucosilado hace pensar en un defecto del metabolismo de la fucosa. En el futuro no demasiado distante, estas deficiencias se tratarán por reemplazo genético pero, entretanto, los injertos de médula ósea alogénica utilizados para corregir la enfermedad ligada al CD18 son sorprendentemente bien tolerados, debido tal vez al defecto de LFA-1.

En la **enfermedad de Chediak-Higashi** y la contraparte murina "beige", la disfunción de las células NK y los neutrófilos se asocia con la acumulación de gránulos intracitoplasmáticos gigantes que son resultado del tráfico defectuoso del compartimiento tardío endosómico/lisosómico. Los pacientes sufren infecciones piógenas fatales, en particular por *Staphylococcus aureus*. La infección a menudo activa una misteriosa "fase acelerada" de proliferación incesante de células T, pero esto puede controlarse mediante el trasplante de médula ósea.

La **susceptibilidad mendeliana a la infección micobacteriana** en los seres humanos, que involucra la BCG o las micobacterias no tuberculosas puede remontarse a mutaciones recesivas en cuatro genes, dos que afectan las cadenas del receptor IFNγ (IFNγR1 e IFNγR2) y, los otros, las subunidades IL-12p40 e IL- 12R β1. Aparte de cierto aumento de la susceptibilidad contra *Salmonella*, no se observaron otras infecciones oportunistas, lo que destaca la selectividad del papel protector del IFNγ. Con una visión en perspectiva, las micobacterias inducen la secreción de IL-12 por los macrófagos y células dendríticas que luego activan tanto las células NK como las T; éstos producen IFNγ que enciende los mecanismos macrofágicos que proporcionan entonces protección contra las micobacterias menos patógenas.

Hay un grupo denominado **trastornos "autoinflamatorios"** caracterizado por una inflamación al parecer no provocada, no relacionada con títulos elevados de autoanticuerpos ni células T específicas del antígeno. Uno de éstos, el **síndrome periódico asociado con el receptor TNF** (SPART), se presenta con ataques de fiebre prolongada e inflamación localizada severa causados por mutaciones heredadas de modo dominante en el gen *TNFRSFIA* que codifica el receptor TNF de 55kDa. El daño en el clivaje del receptor ectodominio con una disminución del desprendimiento del receptor soluble que puede ser antagónico es factible que sea responsable de la señal inflamatoria persistente y es saludable destacar los efectos beneficiosos del tratamiento con una proteína de fusión p75 TNFR-Fcγ o anti-TNF. Incluso otro síndrome de fiebre periódica hereditaria es la **fiebre familiar del Mediterráneo**, debida a las mutaciones en el gen *MEFV* que codifica un regulador inflamatorio de 95 kDa designado como pirina o marenostrina, expresado sobre todo en neutrófilos y monocitos activados por citosina Th1.

Deficiencias del sistema complemento

Defectos en las proteínas control

La importancia del complemento en la defensa contra las infecciones se destaca por la aparición de infecciones repetidas amenazantes para la vida con bacterias piógenas en pacientes que carecen del factor 1, el inactivador del C3b. Debido a la incapacidad de destruir el C3b, se observa una activación incesante de la vía alternativa por medio del ciclo de retroalimentación, lo que conduce a niveles muy bajos de C3 y factor B con C1, C4 y C2 normales.

Cada glóbulo rojo es bombardeado a diario con 1.000 moléculas de C3b generadas mediante la formación de C3 convertasa de fase líquida de la vía alternativa a partir de la hidrólisis espontánea del tioléster interno del C3. Para combatir esto, el glóbulo rojo cuenta con varios componentes reguladores en su superficie. El complejo C3 convertasa se disocia por el factor de aceleración de degradación (DAF; CD55) y por los receptores CR1 del complemento (sin olvidarse del factor H de la fase líquida; véase pág. 11) después de lo cual el C3b es desmembrado por el factor 1 junto con el CR1, proteína del cofactor de membrana (MCP) o factor H (fig. 15-2). También hay dos inhibidores del complejo de ataque de la membrana, factor de restricción homólogo (HRF) y la abundante molécula protectina (CD59), que, por unión con el C8, impide el desdoblamiento de la primera molécula de C9 necesaria para la inserción en la membrana. DAF, HRF y CD59 se unen a la membrana por medio de anclajes de glucosil fosfatidilinositol. En una situación conocida como **hemoglobinuria paroxística nocturna** (HPN), hay un defecto en la capacidad de sintetizar estos anclajes, causado por una mutación en el gen *PIG-A* ligado al cromosoma X que codifica la enzima requerida para agregar *N*-acetil glucosamina al fosfatidilinositol. En ausencia de estos reguladores del complemento se produce una lisis grave de los glóbulos rojos. En el tipo II de la HPN, menos grave, hay un defecto en DAF, pero en la forma del tipo III, también asociada con deficiencia de CD59, la susceptibilidad a la lisis espontánea mediada por complemento está muy aumentada (fig. 15-2). Los eritrocitos pueden normalizarse mediante el agregado de los factores deficientes.

En el **infarto agudo de miocardio**, disminuye la expresión de la protectina CD59, quizá debido al desprendimiento de pequeñas vesículas de la membrana, y esto sensibiliza las células del miocardio lesionadas para ser atacadas por el complejo de ataque a la membrana (MAC), lo que conduce a una demarcación nítida entre las áreas de tejido no viable y viable.

En el **angioedema hereditario** falta un inhibidor del C1 activo y esto puede conducir a los episodios recurrentes del edema no inflamatorio circunscripto agudo mediado por un fragmento C2 vasoactivo (fig. 15-3). Los pacientes son heterocigotos y sintetizan cantidades pequeñas del inhibidor, que puede elevarse a niveles útiles por la administración del esteroide anabólico sintético danazol o, en casos críticos, del propio inhibidor purificado. El ácido e-aminocaproico, que bloquea la liberación de C2 cinina inducida por plasmina proporciona un tratamiento alternativo.

Deficiencia de componentes de la vía del complemento

Las deficiencias en C1q, C1r, C1s, C4 y C2 predisponen al desarrollo de enfermedades por complejos

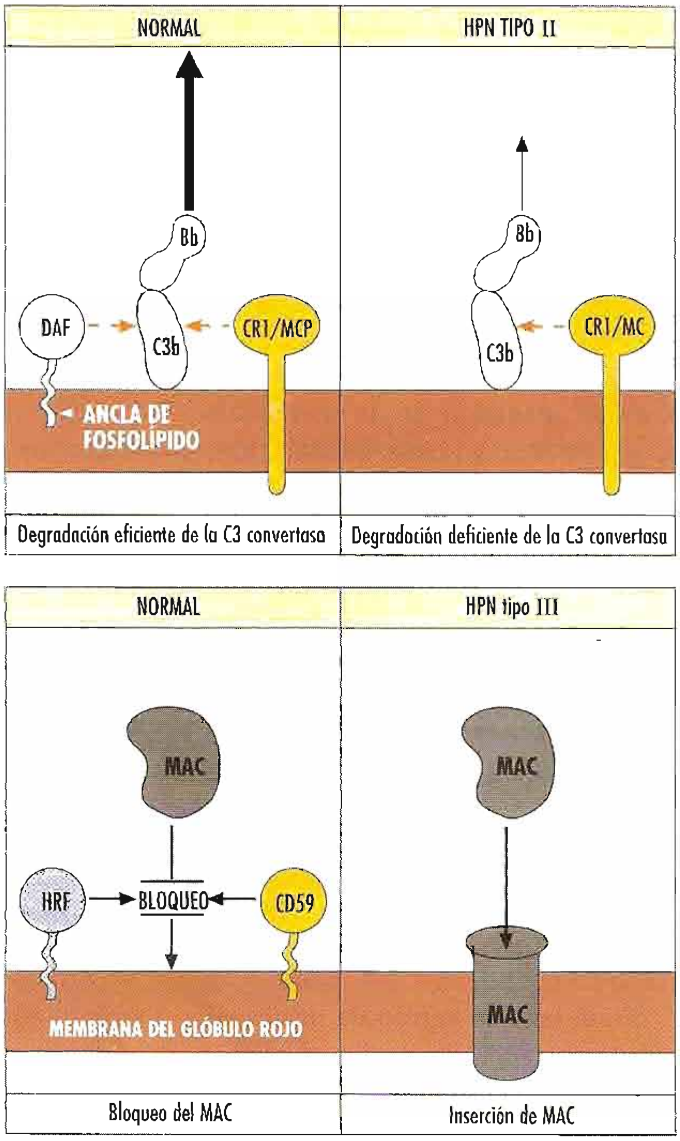

NORMAL
HPN TIPO II
Bb
DAF
C3b
CR1/MCP
ANCLA DE FOSFOLÍPIDO
Bb
C3b
CR1/MC
Degradación eficiente de la C3 convertasa
Degradación deficiente de la C3 convertasa
NORMAL
HPN tipo III
MAC
HRF
BLOQUEO
CD59
MEMBRANA DEL GLÓBULO ROJO
MAC
MAC
Bloqueo del MAC
Inserción de MAC

Fig. 15-2. Hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN). Una mutación en el gen *PIG-A* que codifica la enzima α-1,6-*N*-acetil glucosaminil transferasa, produce incapacidad para sintetizar las anclas de glucosil fosfatidilinositol, depriva a la membrana del glóbulo rojo de las proteínas del control del complemento y convierte a la célula susceptible a la lisis mediada por el complemento. El tipo II se asocia con un defecto del DAF, el tipo III, más grave, con una deficiencia adicional de CD59. DAF, factor de aceleración de degradación; CR1, receptor del complemento tipo 1; MCP, proteína del cofactor de membrana; HIRF, factor de restricción homólogo; MAC, complejo de ataque a la membrana.

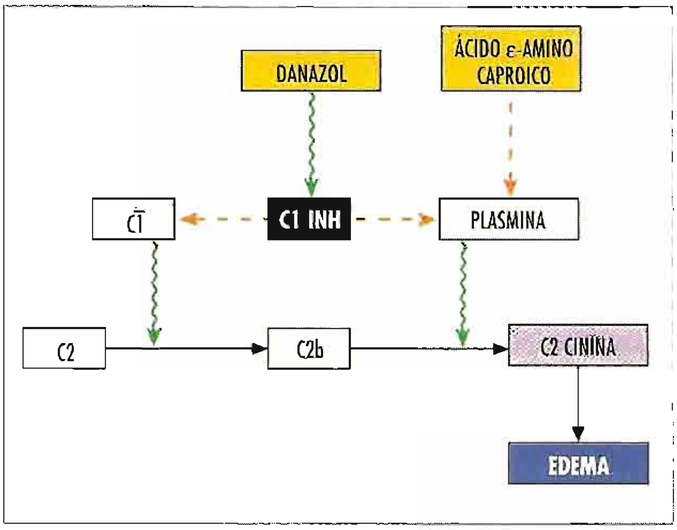

DANAZOL
ÁCIDO ε-AMINO CAPROICO
C̄1
C1 INH
PLASMINA
C2
C2b
C2 CININA
EDEMA

Fig. 15-3. Deficiencia del inhibidor de C1 y angioedema. El inhibidor de C1 inhibe estequiométricamente a C1, plasmina, calicreína y factor de Hageman activado, y la deficiencia conduce a la formación de cinina C2 vasoactiva por el mecanismo descrito. La síntesis del inhibidor de C1 puede ser estimulada por metiltestosterona o de preferencia por el esteroide sintético masculinizante danazol; de manera alternativa, los ataques pueden controlarse por la administración de ácido ε-aminocaproico para inhibir la plasmina.

inmunes como LES (véase pág. 487), quizá debido a una disminución en la capacidad de montar una respuesta adecuada del huésped contra la infección con un agente etiológico putativo o, con más probabilidad, para eliminar de forma efectiva los complejos antígeno-anticuerpo (véase pág. 384). Si se tiene presente el centro de la respuesta autoinmune en el LES en los constituyentes moleculares de las burbujas que aparecen en la superficie de las células apoptósicas (véase pág. 489), la importancia del C1q en la unión a estos cuerpos apoptósicos y a su depuración se torna máxima. Por esto, los ratones con deficiencia de C1 desarrollan títulos elevados de anticuerpos antinucleares y mueren por grave glomerulonefritis grave. En otro viraje a la historia, los cuerpos apoptósicos recubiertos con C1q y C4 migran a la médula ósea, donde se unen al receptor C4b y seleccionan de manera negativa las células B autorreactivas, como se evidencia por la activación de las células B antinucleares en los animales con deficiencia de C4.

Las deficiencias permanentes en C5, C6, C7, C8 y C9 en su totalidad se describieron en seres humanos: en casi todos los casos los individuos son sanos y no presentan una predisposición a la infección, aparte de un aumento a la susceptibilidad para desarrollar formas diseminadas de *Neisseria gonorrhoeae* y *N. meningitidis*. Así, el funcionamiento completo del sistema complemento terminal no parece ser esencial para la supervivencia, y la protección adecuada debe ser proporcionada en gran medida por los anticuerpos opsonizantes y el mecanismo de adherencia inmune.

DEFICIENCIA PRIMARIA DE CÉLULAS B

La a-γ-globulinemia ligada al cromosoma X (tipo Bruton) se debe a una falla temprana de la maduración de las células B

La a-γ-globulinemia congénita de Bruton es uno de los diversos síndromes de inmunodeficiencia que fue mapeado en el cromosoma X (fig. 15-4). El defecto se presenta en el estadio de célula pre-B y la producción de inmunoglobulina en los varones afectados está groseramente deprimida, por lo que se observan pocos folículos linfoides o células plasmáticas en las biopsias de ganglios linfáticos. Las mutaciones se producen en el gen tirosina cinasa de Bruton (*Btk*), que también es responsable del defecto *xid* en los ratones. Los niños son pasibles de infecciones repetidas por bacterias piógenas como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* y *S. pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* y por un protozoo raro, *Pneumocystis carinii*, que produce una forma extraña de neumonía. Las respuestas inmunes mediadas por células son normales y las infecciones virales, como el sarampión y la varicela, se controlan con facilidad. La terapéutica implica la administración repetida de γ-globulina humana para mantener las concentraciones adecuadas de inmunoglobulina circulante.

Las mutaciones, ya sean en la cadena pesada μ o en la cadena λ_5, que contribuyen con la sustitución del receptor IgM en las células pre-B (véase pág. 270), produce un fenotipo similar al observado en la a-γ-globulinemia congénita de Bruton con detención en el estadio de pro-B. La implicación sería que *Btk* proporcionaría la señal para la diferenciación de pro-B a pre-B por medio de este complejo receptor de célula pre-B.

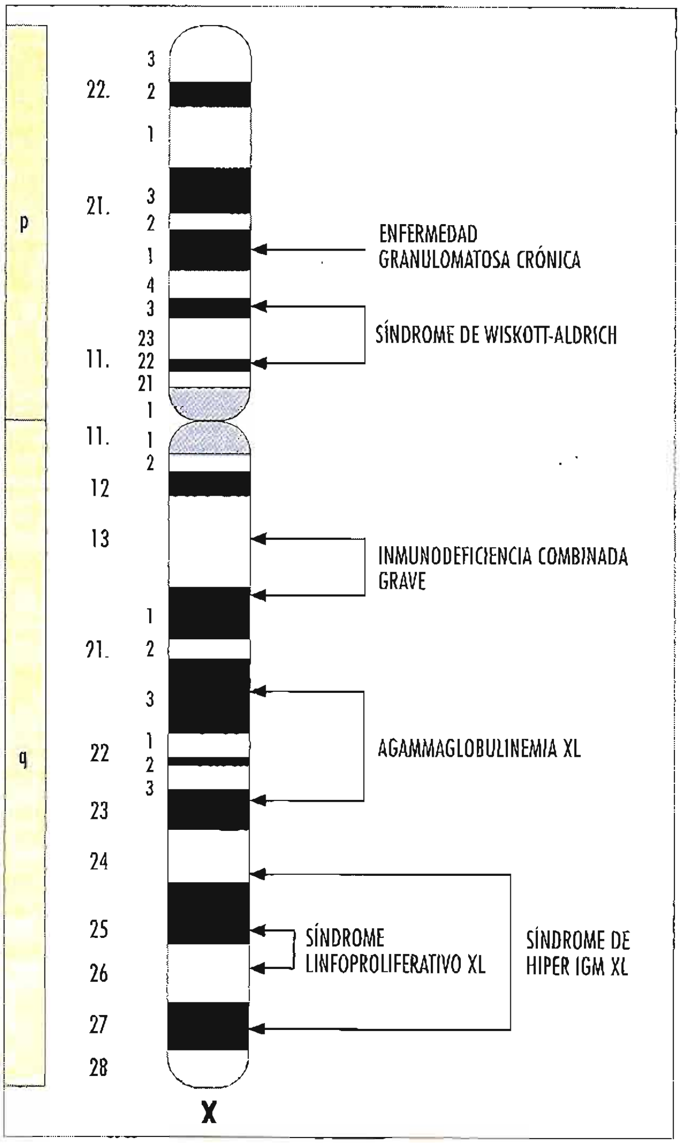

p
q
22.
3
2
1
21.
3
2
1
4
3
11.
23
22
21
1
11.
1
2
12
13
1
21.
2
3
22
1
2
3
23
24
25
26
27
28
X
ENFERMEDAD GRANULOMATOSA CRÓNICA
SÍNDROME DE WISKOTT-ALDRICH
INMUNODEFICIENCIA COMBINADA GRAVE
AGAMMAGLOBULINEMIA XL
SÍNDROME LINFOPROLIFERATIVO XL
SÍNDROME DE HIPER IGM XL

Fig. 15-4. Locus de los síndromes de inmunodeficiencia ligados al cromosoma X (XL). Los varones serán afectados con más probabilidad por los genes recesivos ligados al cromosoma X porque, a diferencia de la situación con las mujeres en las que hay dos cromosomas X, no es necesaria la homocigosidad.

La deficiencia de IgA y la inmunodeficiencia común variable (IDCV) tienen una base genética similar

Estas enfermedades, que constituyen la primera y la segunda inmunodeficiencias primarias más comunes, representan los extremos de un espectro de deficiencias de inmunoglobulinas.

La deficiencia de IgA, que puede incluir IgG2, y la IDCV a menudo se presentan dentro de la misma familia que con frecuencia comparte el haplotipo HLA y los miembros individuales de la familia pueden cambiar en forma gradual de una enfermedad a la otra. Esto sugiere una base genética común, pero la heterogeneidad de la enfermedad complica la búsqueda de genes candidatos, que hasta el presente no progresó más allá de la identificación de uno o más locus de susceptibilidad dentro de la región TNF/linfotoxina de los genes clase III del CMH. Asimismo, los defectos celulares no se señalaron con precisión de manera satisfactoria: la mayoría de los pacientes presenta un defecto en la imprimación de las células T por el antígeno, que *podría* atribuirse a una disfunción en la célula presentadora de antígeno, y la mayoría de los pacientes revela un patrón de producción elevada de IFNγ CD8, aumento de la expresión de HLA-DR y Fas por las células

CD4, y una proporción aumentada de apoptosis. Los pacientes con IDCV deben protegerse contra las infecciones piógenas recurrentes con γ-globulina intravenosa pero, aunque parezca extraño, la infección por HIV restaura la producción de anticuerpos IgG e IgM, pero no IgA. Esto podría significar que la IDCV puede revertirse por factores inmunoreguladores y presta apoyo a la noción de que la deficiencia selectiva de IgA predispone a la IDCV.

La hipo-γ-globulinemia transitoria se observa en etapas tempranas de la vida

Un grado de deficiencia de inmunoglobulina se presenta de manera natural en lactantes a medida que disminuye el nivel de IgG de la madre y puede convertirse en un problema serio en los bebés nacidos mucho antes del término. Una **hipo-γ-globulinemia transitoria de la infancia** más prolongada, caracterizada por infecciones respiratorias recurrentes, se asocia con bajos niveles de IgG que a menudo retornan casi de manera abrupta a los valores normales alrededor de los 4 años. Hay una deficiencia en la cantidad de linfocitos circulantes y en su capacidad de generar colaboración para la producción de Ig por las células B activadas por el mitógeno fitolaca, pero esto se normaliza cuando la enfermedad se resuelve de manera espontánea.

DEFICIENCIA PRIMARIA DE CÉLULAS T

Los pacientes sin células T o con una función deficiente de las células T son vulnerables a las infecciones oportunistas y, dado que las células B dependen en gran medida de las T, las deficiencias de las segundas también impactan de modo negativo en la inmunidad humoral. Las células T disfuncionales a menudo permiten la aparición de alergias, procesos malignos linfoides y síndromes autoinmunes, es probable que estos últimos se originen a partir de la selección negativa ineficiente en el timo o la falla para generar células reguladoras apropiadas.

Algunas deficiencias afectan la diferenciación temprana de células T

Los **síndromes** de **DiGeorge** y de **Nezelof** se caracterizan por una falla del timo para desarrollarse de manera apropiada a partir de la tercera y la cuarta bolsas faríngeas durante la embriogénesis (los niños con síndrome de DiGeorge también carecen de paratiroides y presentan anormalidades cardiovasculares severas). Por consiguiente, las células madre no pueden diferenciarse para transformarse en linfocitos T y las regiones timodependientes en el tejido linfoide están poco pobladas; por el contrario, se observan folículos linfoides, pero incluso éstos están mal desarrollados (fig. 15-5). Las respuestas de inmunidad mediada por células no son detectables, y, si bien los lactantes pueden hacer frente a las infecciones bacterianas comunes, sucumben por virus vacuna (fig. 15-6) o sarampión, o por el bacilo de Calmette-Guérin (BCG) si se administran por error. Pueden desencadenarse anticuerpos humorales, pero la respuesta es subnormal, lo que tal vez refleje la necesidad de la participación cooperativa de las células T. (No podemos dejar de mencionar la similitud de esta situación con la timectomía neonatal y la deficiencia de células B con la bursectomía neonatal en los pollos.) El tratamiento mediante el injerto de timo neonatal conduce a la restauración de la inmunocompetencia, pero es esencial para el funcionamiento apropiado de los linfocitos T cierto grado de compatibilidad entre los antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad (pág. 257). La ausencia completa del timo es bastante rara y es más frecuente hallar un "síndrome de DiGeorge parcial", en el que las células T pueden elevarse del 6% en el momento de nacer a alrededor del 30% de linfocitos circulantes totales a fines del primer año; las respuestas de anticuerpos son adecuadas.

La mutación de la enzima para la degradación de la purina, es decir la **purina nucleósido fosforilasa**, produce la acumulación del metabolito desoxi-GTP que es tóxico para los precursores de células T por medio de su capacidad de inhibir la ribonucleótido reductasa, una enzima requerida para la síntesis del DNA, y en consecuencia inhibir la multiplicación celular. El blanco del linaje de células T para esta deficiencia podría relacionarse con el relativamente bajo nivel de 5'nucleotidasa. Algunas células T "se escapan" pero brindan una protección inadecuada contra la infección y la enfermedad por lo común es fatal, a menos que se realice un trasplante de médula ósea.

Las mutaciones en las enzimas recombinasa, RAG-1 y RAG-2 (véase fig. 3-8), que inician los episodios de recombinación del *VDJ*, por lo común fallan por completo para generar los receptores de los linfocitos específicos del antígeno, lo que da lugar al fenotipo de inmunodeficiencia combinada grave (IDSC) (véase más adelante). En el **síndrome de Omenn**, las mutantes RAG particulares permiten que algunas células T, en apariencia del fenotipo de Th2, salgan de modo furtivo, aunque no son capa-

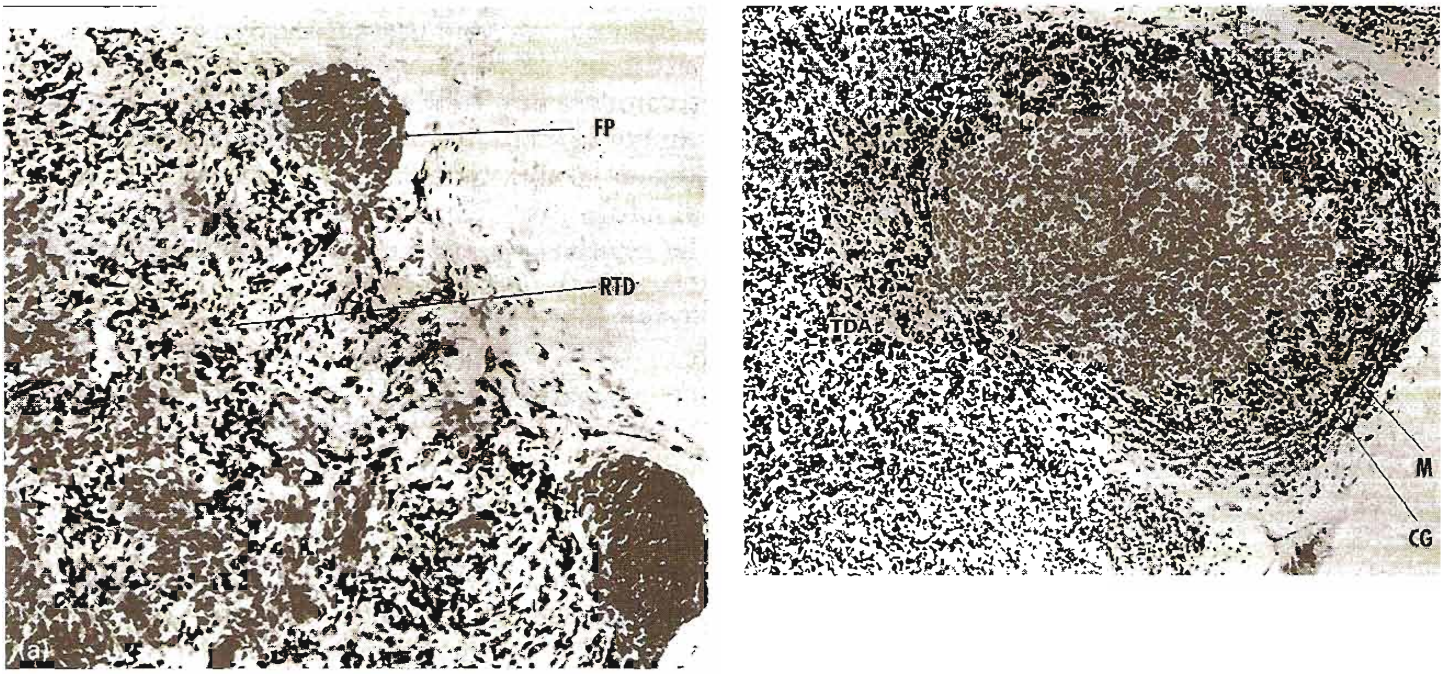


Fig. 15-5. Corteza de ganglio linfático. a) Proveniente de un paciente con síndrome de DiGeorge que muestra depleción de la región timodependiente (RTD) y pequeños folículos primarios (FP); **b)** proveniente de un sujeto normal: región poblada de células T y el folículo secundario bien desarrollado con su manto de linfocitos pequeños (M) y su centro germinal (CG), con una coloración pálida proporciona un contraste marcado. (Material de DiGeorge amablemente proporcionado por el doctor D. Webster; fotografía tomada por Mr CJ Sym.) En el modelo murino, ratón atímico, hay una anormalidad en la hélice de la proteína dañada.

ces de impedir un retraso del crecimiento y la muerte relativamente temprana.

La **deficiencia de las moléculas clase II del CMH**, antes conocida por su denominación más ligera, "síndrome del linfocito desnudo", se asocia con infecciones broncopulmonares recurrentes y diarrea crónica, que se presentan dentro del primer año de vida, con la muerte provocada por infecciones virales irresistibles a una edad promedio de 4 años. El cuadro se origina por mutaciones que afectan las proteínas promotoras RFX-B, CII TA, RFX-5 y RFXAP que se unen a la región 5′ no traducida de los genes de la clase II. La expresión débil de las moléculas clase II en las células del epitelio tímico impide en gran medida la selección positiva de células T-helper CD4 y las que escapan no serán estimuladas por la falta de moléculas clase II en las células presentadoras de antígenos y linfocitos B. Nótese también que en ocasiones pacientes con mutaciones en *TAP-1* o *TAP-2* también poseen el síndrome de linfocito desnudo de molécula clase I del CMH.

Deficiencias que conducen a células T disfuncionales

La inmunidad mediada por células (IMC) está deprimida en los pacientes inmunodeficientes con **ataxia telangiectasia** o trombocitopenia y eccema (**síndrome de Wiskott-Aldrich**). La proteína del síndrome de Wiskott-Aldrich (WASP) cumple un papel crítico en la transducción de la señal mediante la interacción con los dominios Src-homología 3 (SH3) y en la regulación de la reorganización del citoesqueleto. La WASP se agrupa físicamente con la actina por medio de la GTPasaCdc42 y tal vez con otras moléculas que regulan la polimerización de la actina. Así, las mutaciones en el gen *WASP* afectan de manera adversa la movilidad celular, la quimiotaxis del fagocito, el tráfico de las células dendríticas y la polarización del citoesqueleto de las células T hacia las células B durante la colaboración T-B. La inmunidad deficiente mediada por células y el compromiso de la producción de anticuerpos en los niños afectados son consecuencias no del todo sorprendentes.

La ataxia telangiectasia es un trastorno autosómico recesivo de la infancia que se reconoció como un **síndrome de ruptura cromosómica**, caracterizado por ataxia cerebelosa progresiva con degeneración de las células de Purkinje, hipersensibilidad a los rayos X e incidencia de cáncer elevada. El gen mutado, *ATM*, codifica una proteína cinasa (Atm), que es un miembro de la familia fosfatidilinositol 3 cinasa. Luego de la radiación ultravioleta o ionizante, el gen normal actúa por medio de la protei-

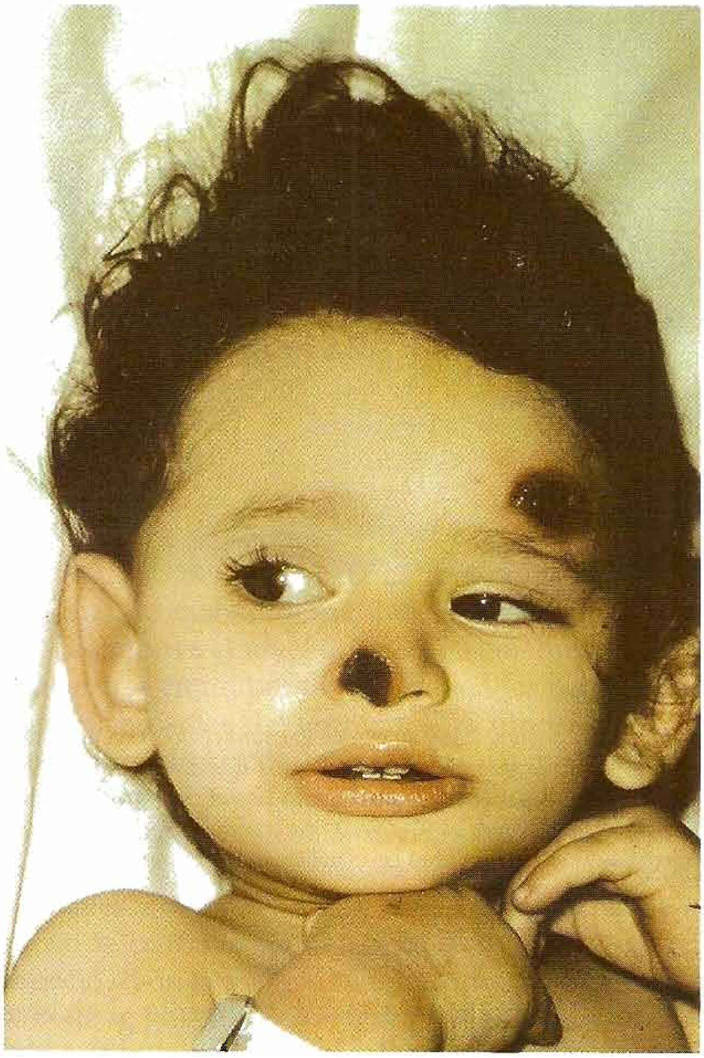


Fig. 15-6. **Un niño con inmunodeficiencia combinada grave** que muestra las lesiones cutáneas debidas a la infección por vaccinia gangrenosa como resultado de la inmunización contra la viruela. Las lesiones estaban extendidas sobre todo el cuerpo. (Reproducida con la amable autorización del Profesor R.J. Levinsky y del Departamento de Ilustración Médica del Hospital for Sick Children, Great Ormond Street, Londres.)

na p53 supresora del tumor y, por eso, la p21 para detener el ciclo celular en el límite G1-S, y mediante la Chk2 cinasa y Cdc25 para bloquear la transición G2-M. Es probable que los mecanismos de reparación del DNA ahora tengan una oportunidad para operar. Lamentablemente, la relación del defecto Atm para la inmunodeficiencia no es clara. Otra enfermedad caracterizada por disfunción inmune, sensibilidad a la radiación y aumento de la incidencia de cáncer es el **síndrome de ruptura de Nijmegen** en el que una mutación en el gen *NBS1* conduce a una proteína defectuosa, nibrina, que en condiciones normales funciona como un componente del complejo de reparación del DNA de doble cadena.

Es excitante ver la base molecular de las enfermedades que se aclaran y un ejemplo excelente de la naturaleza que brinda sus secretos fue proporcionado por los estudios del **síndrome de hiper-IgM XL** (ligado al cromosoma X), un trastorno raro caracterizado por infecciones bacterianas recurrentes, niveles muy bajos o ausentes de IgG, IgA e IgE y concentraciones séricas normales a elevadas de IgM e IgD. Trasciende que las mutaciones puntuales y las deleciones en la célula T CD40L (CD154) se encuentran en la parte de la molécula que se considera que participa en la interacción con la célula B CD40 (véase pág. 195), lo que en consecuencia mantiene a las células T incapaces de transmitir las señales necesarias para el cambio de la clase de Ig en las células B. Quizás una nota de advertencia con respecto a la terapéutica genética no estaría fuera de lugar en este punto. En ratones por noqueo CD40L que imitan el síndrome de hiper-IgM humano ligado al cromosoma X se inocularon células transducidas BM o células tímicas mediante el uso de un vector retroviral que contiene el gen *CD40L*. La expresión constitutiva de bajo nivel estimuló las funciones inmunes humorales y celulares, pero 12 de 19 ratones desarrollaron un trastorno linfoproliferativo de células T, lo que sugiere que los métodos actuales de terapéutica genética pueden ser inapropiados para los trastornos que incluyen genes muy regulados en posiciones esenciales en las cascadas proliferativas.

Asimismo, para el coleccionista están los casos raros de deficiencia severa de células T originados a partir de la mutación en las cadenas e y γ del complejo CD3y la ZAP-70 cinasa (pág. 184), lo que genera células T disfuncionales y de preferencia compromete la diferenciación de las células T CD8.

INMUNODEFICIENCIA COMBINADA

La enfermedad por inmunodeficiencia combinada grave (IDSC) que involucra las células B, T y NK representa la forma más grave de la inmunodeficiencia primaria, que afecta a alrededor de un niño cada 80.000 nacimientos vivos. Estos recién nacidos exhiben defectos profundos en la inmunidad celular y humoral, con muerte dentro del primer año de vida debido a las infecciones oportunistas severas y recurrentes. Son frecuentes la diarrea prolongada, que es resultado de infecciones gastrointestinales, y la neumonía, por *Pneumocystis carinii*; *Candida albicans* se desarrolla con vigor en la boca o en la piel. Si se vacunan con microorganismos atenuados (fig. 15-6), fallecen por la infección progresiva. Para sobrevivir, los recién nacidos con IDSC deben rescatarse mediante un trasplante de médula ósea.

La **disgenesia reticular** es una variante rápidamente fatal de la inmunodeficiencia combinada grave asociada con falta de células precursoras tanto mieloides como linfoides, pero la IDSC puede originarse de una variedad de circunstancias que de manera selectiva se dirigen a la diferenciación de células linfoides.

Las mutaciones en las vías de señalización de la IL-7 producen IDSC

Más de la mitad de los casos de inmunodeficiencia combinada grave (IDSC) que afecta el desarrollo tanto de células B como de células T, deriva de mutaciones en la cadena γ_c de los receptores para las interleucinas IL-2, IL-4, IL-7, IL-9 e IL-15. De éstos, IL-7R es el más crucial para la diferenciación de linfocitos, y las mutaciones en la cadena α IL-7R específica de la interleucina o en JAK3 que transduce la señal γ_c producen fenotipos similares. Las mutaciones en el gen del receptor citosina γ_c fueron rescatadas por completo con las células madre de médula ósea autóloga cultivadas con los factores de crecimiento en los fragmentos de fibronectina (el ingrediente mágico necesario para el éxito) y transfectadas con un vector retroviral portador del gen normal. Mientras que los defectos de células T pueden corregirse por el trasplante de médula alogénica con haplotipo compatible dentro de los primeros 3 meses de vida sin necesidad de tratamiento previo mieloablativo y con tasas de supervivencia de hasta el 96%, los donantes no siempre pueden estar accesibles con facilidad y, en una proporción de casos, los defectos de las células B y NK no se corrigen; estos pacientes se beneficiarían con la estrategia de células autólogas transfectadas.

La IDSC puede originarse a partir de una recombinación deficiente grosera de *VDJ*

A diferencia de obrar en forma solapada a través de las células inmunocompetentes a las que acompaña la deficiencia de *RAG* parcial en el síndrome de Omenn, las mutaciones disfuncionales groseras en las enzimas recombinasas, que catalizan la introducción de las dobles cadenas rotas, permiten la recombinación ulterior de los segmentos *V*, *D* y *J*, e impiden la emergencia de cualquier linfocito maduro. La falla del mecanismo de recombinación de *VDJ* también es una característica de las células radiosensibles provenientes de pacientes con IDSC con defectos en la proteína cinasa dependiente del DNA, un componente del complejo que realínea y repara los extremos codificados libres creados por las enzimas RAG. Simplemente un recorte en la IDSC, que se produce de manera natural con un fenotipo similar, se identificó en potrillos árabes.

La IDSC puede deberse a mutaciones en la enzima de la vía de salvataje de la purina, la adenosina desaminasa

Muchos pacientes con IDSC presentan una deficiencia genética de la enzima de degradación de las purinas, adenosina desaminasa (ADA), lo que produce la acumulación del metabolito dGTP, que es tóxico para las células madre linfoides tempranas. La inmunodeficiencia comparable observada en pacientes con leucemia linfocítica aguda tratados con el inhibidor de la ADA, desoxiformacin, certifica la validez de este análisis. La mitad de los pacientes con IDSC deficientes en ADA responde en forma razonable bien a las transfusiones de glóbulos rojos normales que contienen la enzima, mientras que otros con una deficiencia más grave y prolongada, que podrían tener afectado el epitelio tímico, también requieren el tratamiento con la enzima modificada por polietilenglicol, lo que prolonga su vida media. Estos pacientes son candidatos excelentes para la terapéutica genética. Los niños fueron tratados con infusión periódica de sus propias células T corregidas por transfección con el gen *ADA* unido a un vector retroviral. La reconstitución significativa de respuestas de anticuerpos y las pruebas cutáneas de tipo retardado contra los antígenos medioambientales se practicaron sin complicaciones evidentes. Las células madre hematopoyéticas provenientes de sangre de cordón umbilical transfectadas con el gen *ADA* podrían detectarse hasta los 18 meses de edad, pero el nivel de expresión fue muy bajo y, hasta que se mejore la tecnología, estos pacientes deben mantenerse con tratamiento de reposición de la enzima.

Inmunodeficiencia combinada como resultado del defecto hereditario del control de la función del linfocito

La **enfermedad linfoproliferativa ligada al cromosoma X** (XLP), antes conocida como síndrome de Duncan, es un trastorno de inmunodeficiencia progresiva caracterizado por fiebre, faringitis y disgammaglobulinemia, con una vulnerabilidad particular a la infección a virus de Epstein-Barr. Las mutaciones se descubrieron en el gen *SH2DIA/SAP* que codifica SAP (proteína asociada con la molécula de señalización de la activación linfocítica [SLAM]) que se une al SLAM a través de su dominio SH2. Dado que la activación de SLAM conduce a una inducción firme de IFNγ en ambas células Th1 y Th2, y actúa sobre las células B para incrementar la proliferación y la susceptibilidad a la apoptosis, las mutaciones en SAP que afectan de manera adversa la activación de SLAM debilitarán la respuesta inmune, sobre todo con respecto a la infección por EBV en la que la replicación viral con las células B está controlada con firmeza por las células T del huésped. La mutación en otra proteína reguladora de la señal, la proteína tirosina fosfatasa CD45, dio lugar a la IDSC observada en un niño con respuestas débiles linfocíticas a los 2 meses de edad.

Los ratones con el gen *lpr* exhiben un **síndrome linfoproliferativo progresivo** que refleja una acumulación de células T anormales $CD4^-8^-$ con características autoinmunes variables (véase cuadro 19-4). La mutación codifica una molécula Fas (CD95) incompetente y en consecuencia una apoptosis del linfocito estimulado por la Fas defectuosa. La deficiencia homocigótica es muy rara en los seres humanos. El desarrollo de células T y B dañadas, y la producción excesiva de autoanticuerpos por las células B-1 son las consecuencias de mutaciones en ratones **comepolillas** (véase pág. 477), lo que afecta la fosfatasa celular hematopoyética (en inglés, *h*ematopoietic *c*ell *p*hosphatase –HCP–) que regula episodios estimulados por el compromiso de los receptores del antígeno.

RECONOCIMIENTO DE LAS INMUNODEFICIENCIAS

Los defectos en las inmunoglobulinas pueden evaluarse por estimaciones cuantitativas; los niveles arbitrarios de 2g/L definen el límite inferior normal práctico. La respuesta inmune humoral puede examinarse en primer lugar mediante una evaluación de la presencia de anticuerpos naturales (isohemaglutininas A y B, heteroanticuerpos contra glóbulos rojos de carnero, bactericidinas contra *E. coli*) y luego intentando inducir la inmunización activa antidiftérica, antitetánica, antipertussis y antipoliomielítica con virus muertos, pero no con virus vivos. CD19, 20 y 22 son los marcadores principales para enumerar las células B por inmunofluorescencia.

Los pacientes con deficiencia de células T serán hiporreactivos o no reactivos en las pruebas cutáneas para ciertos antígenos, como tuberculina, candidina, tricofitina, estreptocinasa/estreptodornasa y paperas. Puede emprenderse la sensibilización cutánea activa con dinitroclorobenceno. La reactividad de las células mononucleares de sangre periférica contra fitohemaglutinina es un buen indicador de la reactividad del linfocito T, como lo es también la reacción linfocítica mixta de una vía (véase cap. 17). La cuantificación de las células T se logra con más facilidad por citofluorometría mediante el empleo de anticuerpos monoclonales contra CD3.

También están disponibles pruebas in vitro para el complemento y la actividad bactericida, y otras funciones de los polimorfonucleares, mientras que la reducción del nitro azul tetrazolio (NBT) o la estimulación de la producción de superóxido proporciona una medida de las enzimas oxidativas asociadas con la fagocitosis activa.

INMUNODEFICIENCIA SECUNDARIA

La capacidad de respuesta inmune puede deprimirse de manera inespecífica por muchos factores. La IMC en particular puede estar alterada en un estado de desnutrición, incluso del grado que puede encontrarse en las áreas urbanas de las regiones más desarrolladas del mundo. La deficiencia de hierro tiene una importancia particular en este aspecto, así como las deficiencias de cinc y selenio.

Las infecciones virales con cierta frecuencia son inmunosupresoras y la caída profunda en la inmunidad mediada por células que acompaña a la **infección por sarampión** se atribuyó a la supresión específica de la producción de IL-12 por enlaces cruzados entre el virus y el CD46 de la superficie del monocito (el regulador del complemento también conocido como proteína cofactora de membrana; véase pág. 349). El virus inmunosupresor más notorio, es decir el de la inmunodeficiencia humana (HIV), se tratará en la próxima sección. En la lepra lepromatosa y en la infección palúdica hay evidencias de una restricción de la capacidad de respuesta inmune impuesta por la distorsión de las vías de tráfico linfoide normal y, además, en el último caso, la función del macrófago parece ser aberrante. El trastorno del equilibrio entre las células Th1 y Th2 como resultado de la infección también puede deprimir las subpoblaciones más apropiadas para la protección inmune.

Muchos agentes terapéuticos, como los rayos X, los fármacos citotóxicos y los corticosteroides, si bien se utilizan a menudo en un contexto no inmunitario pueden tener efectos desvastadores sobre el sistema inmune (véase pág. 436). Los **trastornos linfoproliferativos B**, como la leucemia linfática crónica, el mieloma y la macroglobulinemia de Waldenström, se asocian con grados variables de hipo-γ-globulinemia y alteraciones de las respuestas de anticuerpos. Sus infecciones comunes con bacterias piógenas contrastan con la situación en la enfermedad de Hodgkin en la que los pacientes despliegan las características distintivas de la IMC defectuosa, es decir, la susceptibilidad al bacilo de la tuberculosis, *Brucella*, *Cryptococcus* y virus herpes-zoster.

SÍNDROME DE INMUNODEFICIENCIA ADQUIRIDA (SIDA)

Características clínicas

El SIDA es una enfermedad fatal, particularmente tormentosa, causada por la infección con el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV). Alcanzó proporciones endémicas y causó alarma generalizada (y conocimiento de la inmunología) entre el público. La transmisión por lo general se produce por medio de la infección con sangre o semen que contiene HIV-1 o el virus relacionado, HIV-2. En ciertas regiones de África, donde la incidencia es desmedida, la transmisión se debe en gran parte al contacto heterosexual. Las prostitutas constituyen el reservorio inicial principal de la infección, a diferencia de sus contrapartes en países desarrollados, como Japón, Australia, Nueva Zelanda y Occidente, donde la prevalencia permaneció en cifras sorprendentemente bajas y la mayoría de los casos se presentó en hombres homosexuales, con otros grupos de riesgo, incluidos los abusadores de drogas intravenosas, hemofílicos que reciben factor VIII proveniente de mezclas de plasmas y recién nacidos de madres promiscuas o adictas a drogas. No obstante, la cantidad de heterosexuales infectados está en aumento. La muerte por lo común se debe a una infección pulmonar, pero las complicaciones graves que involucran el sistema nervioso aparecen en alrededor del 30% de los casos. En esencia, después de un período latente prolongado se produce un comienzo súbito de inmunodeficiencia asociado con infecciones oportunistas que suelen involucrar con más frecuencia *Pneumocystis carinii*, pero también citomegalovirus (fig. 15-7), virus de Epstein-Barr (EB) y virus del herpes simple, hongos como *Candida*, *Aspergillus* y *Cryptococcus*, y el protozoo *Toxoplasma*; además, hay una susceptibilidad excepcional adicional para sarcoma de Kaposi. Asimismo hay un complejo relacionado SIDA (CRS) caracterizado por fiebre, pérdida de peso y linfadenopatía.

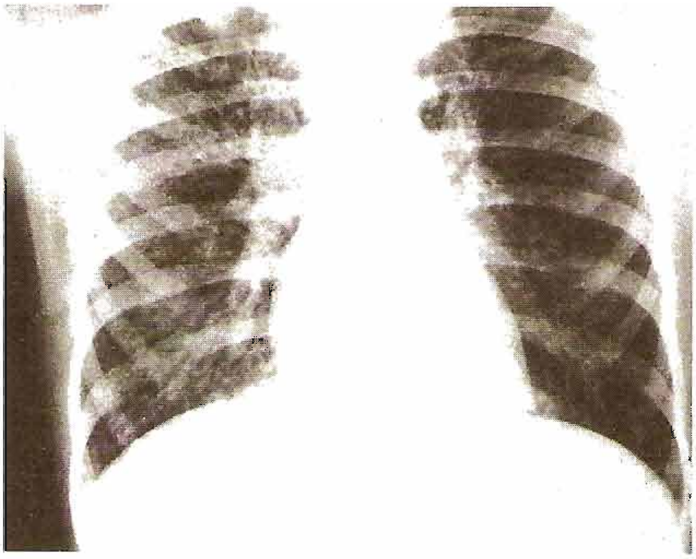


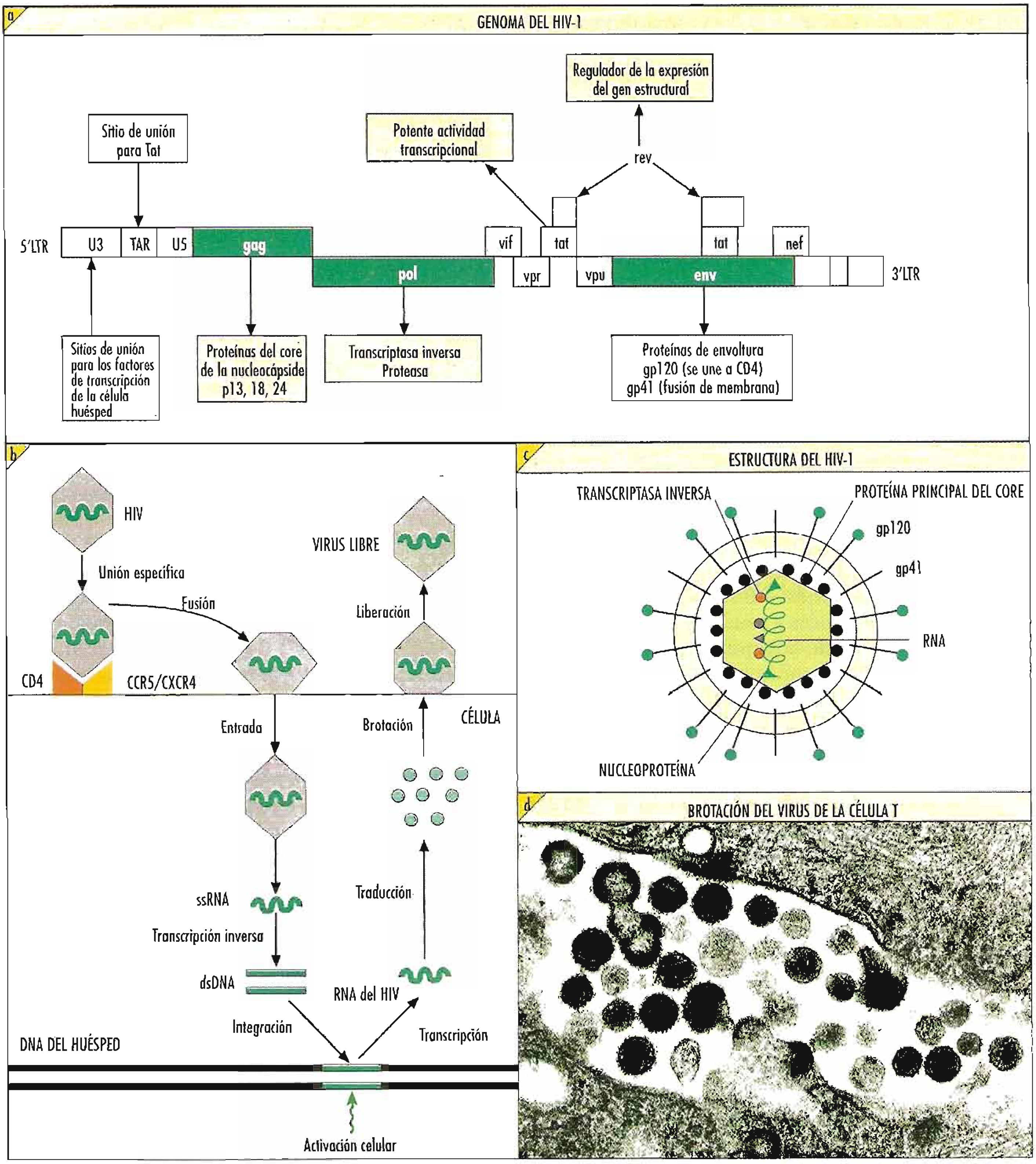
Fig. 15-7. **Neumonía viral por citomegalovirus**; radiografía que muestra neumonía difusa extensa en ambos campos pulmonares, característica de infección viral. (Reproducido de Lambert HP y Farrar WE [eds.] [1982] *Infectious Disease Illustrated*, pág. 2.2. W.B. Saunders y Gower Medical Publishing, con autorización.)

Características del HIV

HIV-1 y HIV-2 son miembros del grupo lentivirus, que producen enfermedad con una latencia larga y son adeptos a evadir el sistema inmune. Son retrovirus con RNA y un genoma relativamente complejo y muy comprimido (fig. 15-8a), y las diferentes proteínas del virión se generan por empalmes y clivajes del RNA por la proteasa viral (fig. 15-8c).

La infección de células por HIV

La glucoproteína gp120 de la envoltura del HIV **se une con avidez a las moléculas CD4 de la superficie celular**, pero sólo inicia la fusión dependiente de gp41 con la célula que conduce a la infección cuando participan los correceptores de quimiocina (fig. 15-8b). Las células T helper con su abundante CD4 son un blanco fundamental para la infección, pero la presencia de incluso relativamente bajas densidades de CD4 en los macrófagos y la microglía los vuelve susceptibles a la infección, y en el último caso se sospecha que constituye un factor importante en las complicaciones cerebrales de la enfermedad. Los aislamientos de



a GENOMA DEL HIV-1

Regulador de la expresión del gen estructural
Sitio de unión para Tat
Potente actividad transcripcional
rev
5'LTR
U3
TAR
U5
gag
vif
tat
tat
nef
pol
vpr
vpu
env
3'LTR
Sitios de unión para los factores de transcripción de la célula huésped
Proteínas del core de la nucleocápside p13, 18, 24
Transcriptasa inversa Proteasa
Proteínas de envoltura gp120 (se une a CD4) gp41 (fusión de membrana)

b

HIV
Unión específica
Fusión
CD4
CCR5/CXCR4
VIRUS LIBRE
Liberación
Entrada
Brotación
CÉLULA
ssRNA
Transcripción inversa
dsDNA
Traducción
RNA del HIV
Integración
Transcripción
DNA DEL HUÉSPED
Activación celular

c ESTRUCTURA DEL HIV-1

TRANSCRIPTASA INVERSA
PROTEÍNA PRINCIPAL DEL CORE
gp120
gp41
RNA
NUCLEOPROTEÍNA

d BROTACIÓN DEL VIRUS DE LA CÉLULA T

Fig. 15-8. Características del virus del SIDA HIV-1. a) Genoma del HIV-1 y productos genéticos. Tat, interruptor maestro, activa toda la expresión del gen viral; *rev*, gen responsable de la expresión de proteínas estructurales; *vif*, gen que controla la infectividad por virus libre, no unido a la célula; Vpr, activador transcripcional débil; Vpu, requerido para la brotación eficiente del virión y el procesamiento env; Nef, función incierta ligada a la patogenia in vivo; LTR, repeticiones terminales largas implicadas en la regulación de la expresión viral; contiene regiones que reaccionan con los productos de los genes *tat* y *nef*, y además con la secuencia promotora *TATAAA* (la caja TATA), los elementos estimuladores del core NFκB y los sitios de unión Sp 1. Los ratones que portan el transgén *tat* desarrollan lesiones cutáneas tipo sarcoma de Kaposi. **b)** Ciclo de vida intracelular del HIV. **c)** Estructura del HIV-1. **d)** Microfotografía electrónica de partículas de HIV-1 maduras y brotantes en la superficie de blastos humanos estimulados con PHA. (Cortesía del doctor Carol Upton y el profesor S. Martin.)

diferentes virus varían en su tropismo relativo para las células T y los macrófagos. Temprano en la infección, los virus utilizan el correceptor CCR5 para la entrada en las células T de memoria y los macrófagos; estas cepas "M-trópicas" por lo común no son capaces de inducir sincitios cuando se cultivan células T CD4 (en inglés *n*onsyncytium *i*nducing –NSI–; no inductoras de sincitio). Éstas con frecuencia se desarrollan en cepas "T-trópicas" que pueden infectar las células T en reposo mediante el correceptor CXCR4 y son inductoras de sincitio (SI). Las células dendríticas inmaduras que expresan CCR5 son atraídas por las quimiocinas CC RANTES, MIP-1α y MIP-1β (véase cuadro 10-3), que se liberan a partir de los linfocitos T citotóxicos (LTc) cuando encuentran el antígeno viral. Las células dendríticas capturan el HIV por medio de una proteína de superficie DC-SIGM y migran al tejido linfoide donde forman un sincitio de características singulares con las células T, que de manera explosiva dirigen la replicación de los viriones que proporcionan los dos factores de transcripción necesarios: **Sp1,** derivado de las células T no estimuladas, y las proteínas **NFκB,** expresadas por las células dendríticas. ¡Sin dudas, "*une liaison dangereus*" (una relación peligrosa)! Es posible que el descubrimiento de importancia crucial haya sido que las suspensiones de células dendríticas *foliculares* (en inglés *f*ollicular *d*endritic *c*ell –FDC–) aisladas, provenientes de amígdalas del ser humano, pueden infectarse directamente por HIV mediante un proceso en el que no participa CD4. Las células infectadas permiten la replicación viral y pueden reinfectar células T in vitro. Como veremos, las FDC son un reservorio importante del HIV en el SIDA.

Cuando penetra en el interior de la célula, el HIV, como un RNA retrovirus utiliza una **transcriptasa inversa** para convertir su RNA genético en el correspondiente DNA, que está integrado en el genoma del huésped donde puede permanecer latente por períodos prolongados (fig. 15-8b). La estimulación de células T o de macrófagos infectados en forma latente activa la replicación del HIV por medio de un aumento intracelular de la concentración de dímeros NFκB, que se unen a secuencias consenso en la región potenciadora del HIV (fig. 15-9). Es significativo que el factor de necrosis tumoral (TNF), que regula hacia arriba la replicación del HIV a través de esta vía NFκB, esté presente en concentraciones elevadas en el plasma de individuos infectados por HIV, en particular en el estadio avanzado. Quizás, también, la mayor susceptibilidad de los africanos al SIDA puede relacionarse con la activación del sistema inmune por la agresión microbiana continua. Por último, el virus infeccioso se libera de la célula por brotación (fig. 15-8d).

Evolución natural de la enfermedad

La secuencia de acontecimientos que siguen a la infección por HIV-1 se esquematiza en la figura 15-10. Un síndrome agudo retroviral temprano con fiebre, mialgias, artralgias, etc., se acompaña por viremia y pruebas positivas para el antígeno p24 en sangre, un antígeno dominante de la nucleocápside. Una respuesta inmune contra el virus identificable por anticuerpos circulantes contra la proteína p24 y las glucoproteínas de envoltura gp120 y gp41, y por la producción de células T citotóxicas específicas contra la gp120, abrevia la viremia y conduce al **secuestro del HIV en el tejido linfoide**. El atrapamiento de las partículas viral es mediante la formación de complejos con el anticuerpo y el complemento estimula la hiperplasia folicular y la infección de las FDC. En efecto, los folículos se convierten en el sitio principal para la replicación viral y la infección de otras células del

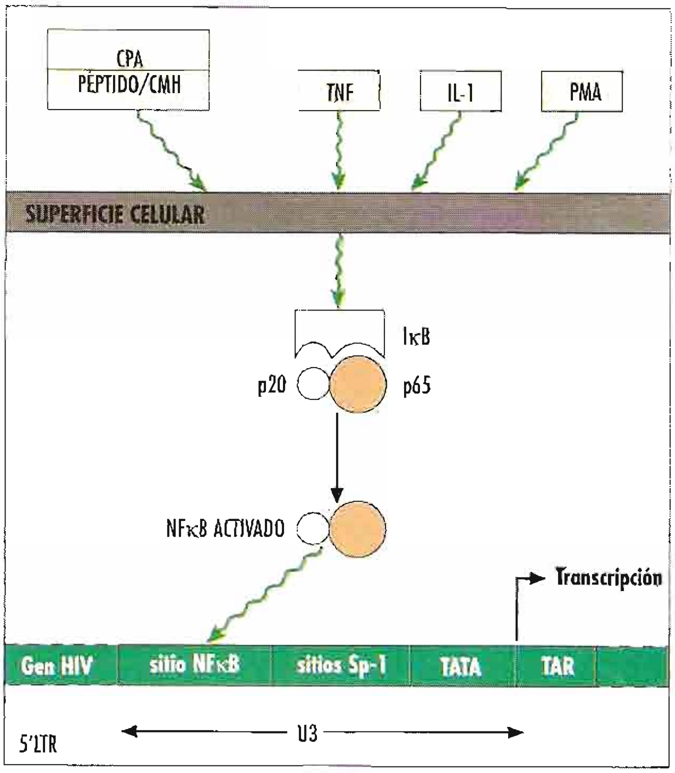


Fig. 15-9. Regulación hacia arriba de la replicación del HIV en la célula infectada de modo latente por medio de la estimulación externa.*, Células T aisladas; IκB, inhibidor de NFκB.

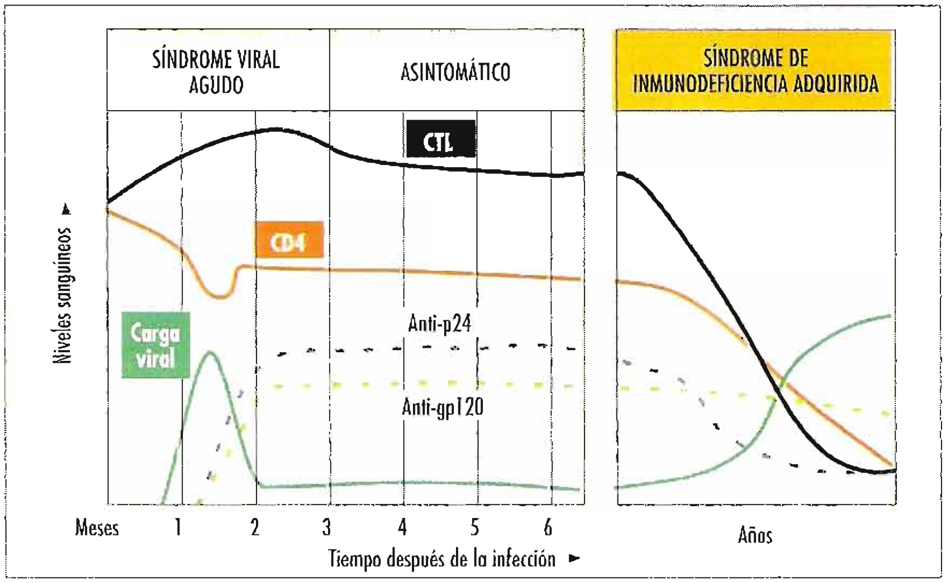


Fig. 15-10. Evolución natural de la infección por HIV-1.

sistema inmune (fig. 15-11). Por último, la involución folicular conduce a una degeneración gradual de la red de FDC con un aumento en la carga viral y en la replicación en las células mononucleares de sangre periférica. De manera crucial, en los pacientes con enfermedad progresiva, las cifras de **células T CD4 circulantes disminuyen de modo constante** pero, sólo cuando hay una depleción profunda con niveles por debajo de unos 50 mm^{-3} se producen consecuencias para las respuestas de IMC, como se ejemplifica por la depresión de la reactividad cutánea tipo retardada para antígenos comunes (fig. 15-12) y la falla para producir células T citotóxicas (Tc) específicas contra citomegalovirus, y se transforma en algo en realidad desvastador. El paciente ahora está abierto a una amplia variedad de infecciones amenazantes para la vida causadas por agentes por lo común no patógenos (es decir, oportunistas), como *Pneumocystis carinii* y citomegalovirus, característicos del SIDA.

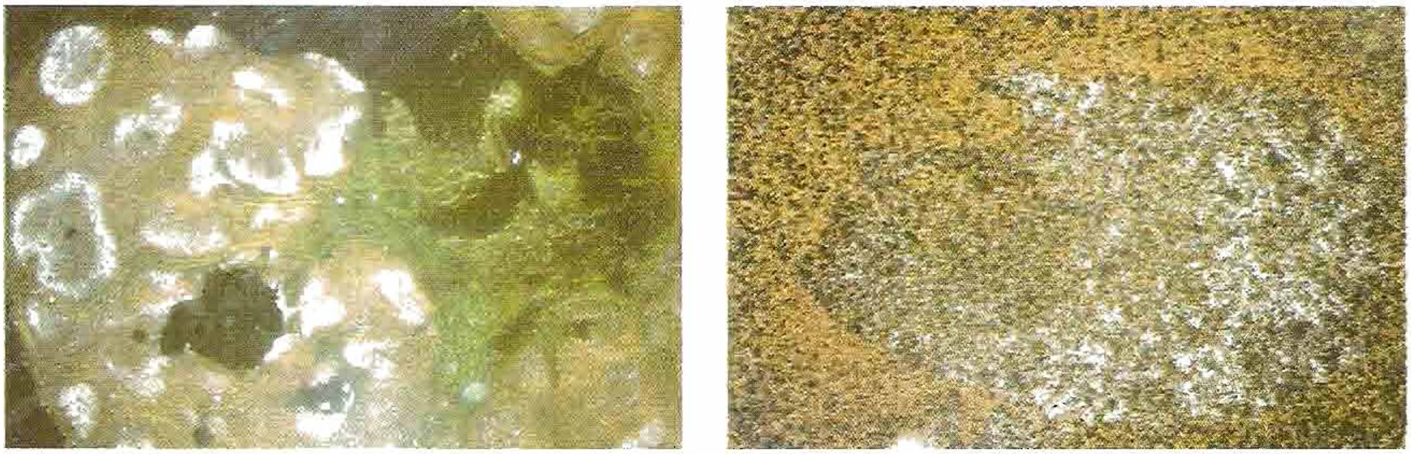


Fig. 15-11. Abundancia de HIV en el tejido linfoide demostrada por hibridación in situ de cortes de ganglio linfático provenientes de un paciente infectado por HIV representativo en el estadio temprano de la enfermedad. **a)** Imagen con campo oscuro de corte de ganglio linfático después de la digestión con proteasa. La localización del RNA del HIV está indicada por los granos argénticos que aparecen como puntos blancos. Una intensa señal de hibridación está restringida de manera predominante en el área de los centros germinales. **b)** Mayor aumento del corte digerido con proteasa que muestra la intensa distribución de los granos argénticos en la zona clara de un centro germinal. (Reproducido a partir de fotos amablemente proporcionadas por Dr. AS Fauci con autorización; véase Pantaleo G, Graziosi C & Fauci AS [1993] The role of the lymphoid organs in the patoghenesis of HIV infection. *Seminars in Immunology* 5,157.)

Las características diagnósticas del SIDA son bastante certeras

Un individuo con infecciones oportunistas, linfopenia, niveles bajos de CD4 en sangre periférica con valores relativamente normales de CD8, niveles elevados de IgG e IgA y pruebas cutáneas deficientes para los denominados antígenos comunes (fig. 15-12) bien puede tener SIDA, en particular si la persona proviene de un grupo de riesgo. El interferón γ (IFNγ) y la neopterina, un producto de degradación del trifosfato de guanosina (GTP) inducido en los macrófagos por IFNγ, son buenos indicadores de la IMC y están aumentados en grado significativo en la infección por SIDA que precede una pérdida subsiguiente de células CD4. La confirmación del diagnóstico se establece con biopsia del ganglio linfático, que muestra anormalidades profundas y cambios drásticos en los centros germinales, y la presencia de anticuerpos virales en el ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) y por "immunoblotting" (inmunotransferencia) (véase págs. 125 y 129). El antígeno p24 en suero a menudo es positivo en la enfermedad activa pero el aislamiento viral o la demostración del genoma de HIV proporcionan la confirmación final de la infección.

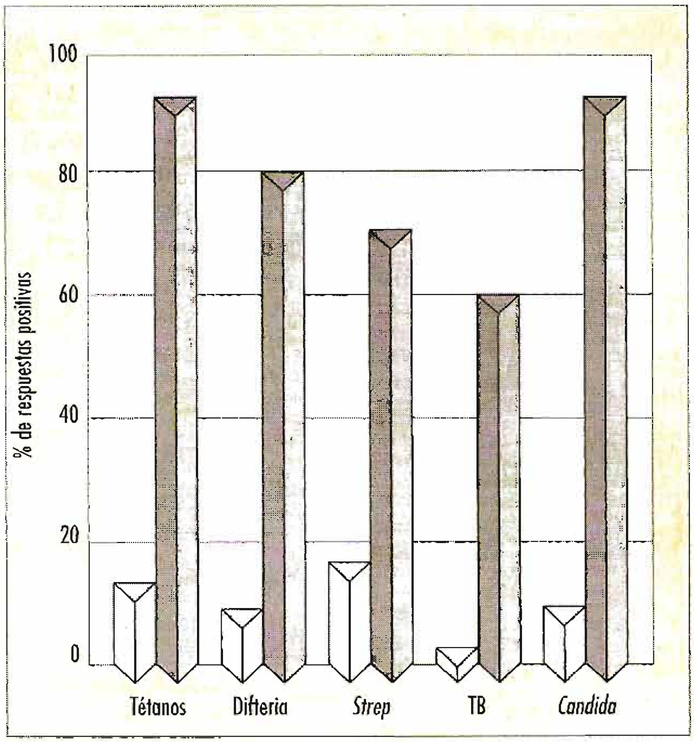


Fig. 15-12. Reactividad de la prueba cutánea frente a antígenos microbianos comunes entre los pacientes con SIDA (; $n = 20$) y controles (▨ ; $n = 10$). Otros estudios con los pacientes más avanzados mostraron ser completamente negativos frente a las pruebas cutáneas. (Reproducido de Lane HC & Fauci AS [1985] *Annual Reviews of Immunology* 3, 477, con autorización.)

Factores que afectan la progresión del SIDA (fig. 15-13)

Si se buscan las correlaciones entre la velocidad con la que los individuos infectados desarrollan la enfermedad y los diversos parámetros de la respuesta inmune, uno espera conocer los elementos que permiten obtener cierto grado de protección y podrían guiar los esfuerzos para producir vacunas

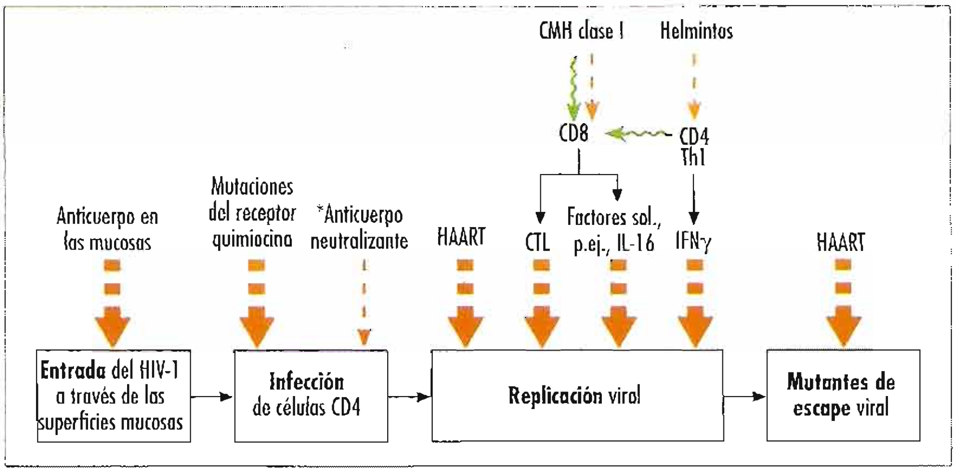

CMH clase I
Helmintos
CD8
CD4 Th1
Anticuerpo en las mucosas
Mutaciones del receptor quimiocina
*Anticuerpo neutralizante
HAART
CTL
Factores sol., p.ej., IL-16
IFNγ
HAART
Entrada del HIV-1 a través de las superficies mucosas
Infección de células CD4
Replicación viral
Mutantes de escape viral

Fig. 15-13. Factores que afectan la progresión del HIV. *Anticuerpos neutralizantes más eficaces contra HIV-2. HAART, terapéutica con fármacos antirretrovirales altamente activos.

eficaces. Si se tiene presente la importancia del descubrimiento de CCR5 como un correceptor de quimiocina para la infección de células con "clades" NSI del HIV, es gratificante destacar la reducción de 10 veces en el riesgo de presentar infección por HIV en individuos **homocigóticos para el alelo *CCR5Δ32*** en los que la deleción de la base 32 codifica un producto no funcional. Los homocigotos representan entre el 1 y el 3% de los europeos del norte, con una declinación hacia el sur y ausencia en las poblaciones de África, Asia y Oceanía. Se especuló que la mutación puede haberse determinado en el siglo XIV en el noroeste de Europa para proporcionar una ventaja selectiva contra la peste bubónica. La progresión de la infección por HIV está retrasada incluso en los individuos heterocigotos.

Como se expresó antes, una **respuesta temprana de LTC CD8** puede reducir la carga viral drásticamente con efectos beneficiosos en el largo plazo. Está implicado un papel importante de los LTC en la mayor supervivencia del 28-40% de individuos caucásicos infectados por HIV-1 que eran en su totalidad heterocigotos en el locus clase I del HLA que *carecen* de alelos B35 o CW4, o ambos. Además, la carga viral aumentó de manera espectacular luego de la depleción de CD8 en monos macacos infectados por el virus de la inmunodeficiencia simiana (SIV) que causa un síndrome tipo SIDA. Como es un retrovirus con RNA, el HIV está sujeto a una tasa de mutación muy alta y los estudios longitudinales en este modelo mostraron que la evasión de los LTC por la mutación de los epítopos es una estrategia de escape importante por comprometer la respuesta inmune antiviral.

Además de su capacidad como efectores de LTC, las células CD8 provenientes de pacientes infectados producen diversos factores que suprimen la replicación del HIV en células CD4 cultivadas. Uno de estos factores es la IL-16 que presenta enlaces cruzados entre la membrana y el dominio D4 proximal del CD4, y bloquea la infección por el virus. Es pertinente destacar que los altos niveles séricos de IL-16 se correlacionan bien con la baja progresión de la enfermedad.

La cuantificación con HLA clase I/tetrámeros peptídicos reveló que hasta el 5% del total de células CD8 en la fase aguda es específico para un solo epítopo y las cifras se correlacionan de modo inverso con la carga viral. Sin embargo, a medida que el tiempo transcurre, el poder protector de las células no se correlaciona con sus cifras, en la jerga del boxeo, "puñetazos por debajo de su peso". No es claro si son en esencia disfuncionales o representan células productoras de IL-10 anérgicas o reguladoras, si bien en un punto hay un acuerdo general: una respuesta de **CD8 saludable sostenida depende sobre todo de robustos efectores de CD4 Th1** que contribuyen con IFNγ, quimiocinas e interacciones entre las células. Aquí está la raíz del problema, ya que, en un comienzo, aunque más del 0,5% de las células CD4 totales es específico para las proteínas virales, se elimina poco después de la infección. Hay una escasez de hipótesis responsable de esta depleción, pero la apuesta es la de la inducción de la apoptosis en las células CD4 específicas del antígeno infectadas cuando proliferan, ya sea en forma directa o por medio de la intimidad de formación de sincitios con células dendríticas que albergan el virus.

La caída pronunciada en las cifras globales de células CD4 asociada con el comienzo del SIDA clínico puede estar precipitada por la evolución de cepas de virus inductoras de células T formadoras de sincitios (SI) a medida que progresa la enfermedad. La capacidad del virus SI de infectar timocitos podría exacerbar una situación ya precaria mediante la interrupción del suministro de un contenido bajo reconocido de células T nuevas generadas por un timo viejo. (Los lectores entusiastas pueden indagar más mecanismos hipotéticos para la depleción de células T mediadas por HIV, p. ej., en *Essential Immunology*, 9th ed, págs. 323- 324, y Hazenberg MO et al. [2000] *Nature Immunolgy* **1**, 285.)

Los anticuerpos en el asa variable 3 (V3) de la proteína gp120 de la envoltura se elevan durante la enfermedad y con frecuencia son capaces de prevenir la infección viral de las células T CD4 in vitro. No obstante, rara vez son protectoras in vivo, en parte porque los experimentos en monos mostraron que se requieren títulos muy altos y que el enmascaramiento de los epítopos que se desprenden de los grupos de hidratos de carbono puede mitigar la inmunogenicidad, quizá porque el virus puede transmitirse en forma directa de las células dendríticas foliculares a las células T CD4 sin exposición al anticuerpo, y por cierto debido a que las secuencias V3 sufren una mutación extensa.

Los anticuerpos neutralizantes son más eficaces en la infección por **HIV-2** donde la progresión a la muerte es mucho más lenta que con el HIV-1, y los individuos asintomáticos por lo común revelan deleciones en el gen *Nef*, una disminución lenta o insignificante en las células CD4 y respuestas intensas de LTC.

Estrategias terapéuticas para controlar el SIDA

La terapéutica farmacológica antirretroviral altamente activa (en inglés, *h*ighly *a*ctive *a*nti-rretroviral *d*rug *t*herapy –HAART–) es muy eficaz cuando se administra al comienzo de la enfermedad y puede reducir la carga viral plasmática a niveles indetectables. No obstante, el virus persiste en una forma latente en las células T CD4 en reposo con un decaimiento de la vida media de 40 meses. Si se supone que el reservorio de células latentes es tan pequeño como 1×10^5 células, la erradicación eficaz podría tomar hasta 60 años y, en todo caso, el tratamiento es muy costoso, y no está exento de efectos colaterales. La estrategia sensata es mantener este virus residual bajo el control del sistema inmune. Un enfoque es utilizar un régimen de fármacos intermitente. Esto permite una nueva emergencia del virus capaz de reforzar las respuestas inmunes bastante imponentes que, a su vez, produciría un efecto sinérgico con la reinstalación de la terapéutica de combinación con fármacos. Sin embargo, el objetivo es desarrollar una vacuna que podría contener la infección luego de la HAART inicial sin la necesidad de una administración posterior de fármacos antivirales.

Dada la eficacia relativa de las células T CD8 en la fase temprana de la infección y su dependencia de los potentes CD4 helpers, junto con la evidencia del papel protector de la inmunidad mediada por células en el modelo mono rhesus con SIV, los esfuerzos se vuelven hacia las vacunas dirigidas hacia Th1. De modo razonable, esto debe ir de la mano de la erradicación de toda infestación parasitaria coexistente que favorecería las respuestas de Th2. Están en marcha ensayos con vacunas que incorporan gran cantidad de secuencias peptídicas de epítopos de células T para minimizar la posibilidad de cepas infectantes que evaden el reconocimiento inmune por mutación y, cuando se contempla la inmunización profiláctica, para aprovecharse del grado justo de reconocimiento cruzado con clades de epítopos de LTC definidos. En una serie de estudios en macacos, la contención más prometedora del desafío por un virus altamente virulento con la envoltura heteróloga contra la cepa inmunizante se logró por la imprimación intradérmica con el DNA de envoltura *gag*, *pol* y *Nef*, seguido por el refuerzo con el virus de varicela recombinante. La inmunización oral con una vacuna **atenuada** recombinada SIV/HIV con una deleción de los genes *Vpu* y *Nef* condujo a la protección contra la infección transmitida por vía vaginal, pero se observó una tendencia inquietante incluso para las cepas atenuadas a ser patógenas. Esto subraya la importancia de la defensa de las mucosas contra la infección inicial y debe darse alguna credibilidad a la idea de que la presencia de anticuerpos antivirales en las secreciones de las mucosas podría ser un factor importante en la defensa primaria. De hecho, a pesar del desalentador comentario mencionado antes, la identificación de un anticuerpo monoclonal fuertemente neutralizante dirigido contra una región conservada del precursor de la envoltura gp160 sugiere que, en una infección normal, los anticuerpos contra este epítopo que puede ser protector podrían ser abrumados por las respuestas no neutralizantes contra otros epítopos de células B adyacentes; si esto fuera así, un epítopo que imitara este epítopo conservado podría ser un valioso candidato adicional de la vacuna.

Están en marcha algunos otros enfoques, todavía en sus fases formativas. Ahora que son más exitosas las técnicas de transfección de células de médula ósea, se investigan adelantos en la "inmunización intracelular" por medio de la introducción de genes que codifican moléculas potenciales anti-HIV, que protegerán de la infección a la futura célula T diferenciada en CD4. En un enfoque, las células de médula ósea son transfectadas con una secuencia del gen CD4 que codifica un péptido bloqueante de HIV; con el reinjerto, algunas de las células madre se convertirán en células T CD4$^+$, que secretan una barrera circundante del péptido bloqueante que protege al linfocito de la infección por el virus. Otro grupo de investigación transfectó las células madre con un gen scFv (véase pág. 139) que codifica un sitio de combinación para el anticuerpo individual específico para HIV, que altera el ciclo de replicación viral. Mediante el empleo de un sistema similar, también podríamos imaginar la transfección de genes antisentido para bloquear la expresión de genes reguladores del HIV. A pesar de esta actividad frenética, un cambio en los patrones del comportamiento social tendría un impacto fundamental en la diseminación implacable del SIDA. No se puede evitar recordar los pedidos hechos por Dios a los suplicantes, frustrados por el fracaso de sus plegarias para obtener de él un premio de la lotería, para que lo ayuden mediante la compra de un billete de lotería.

RESUMEN

Estados de inmunodeficiencia primaria (cuadro 15-1)

- Se presentan en los seres humanos, aunque algo raro, como resultado de un defecto en casi cualquier fase de diferenciación en el sistema inmune entero.
- Las mutaciones ocasionales ligadas al cromosoma X producen enfermedad en los varones.
- Los defectos en las células fagocíticas, las vías del complemento o el sistema de células B, expone en particular para infecciones por bacterias eliminadas por opsonización y fagocitosis.
- Los pacientes con deficiencias de células T son susceptibles a virus y hongos que por lo común son erradicados por la IMC.

Cuadro 15-1. *Resumen de los estados de inmunodeficiencia primaria*

PRODUCTOS DEL GEN DEFECTUOSO	TRASTORNO
DEFICIENCIAS DEL COMPLEMENTO	
C1, C2, C4	Enfermedad por complejos inmunes (LES)
C1 inhibidor	Angioedema
DAF, HRF, CD59 (proteínas reguladoras de anclaje GPI)	Hemoglobinuria paroxística nocturna
C3, Fact H, Fact I	Infecciones piógenas recurrentes
C5, C6, C7, C8	Infecciones recurrentes por *Neisseria*
Properdina	
DEFECTOS FAGOCÍTICOS	
NADPH oxidasa	Enfermedad granulomatosa crónica
CD18 (cadena β β_2-integrina)	Deficiencia de la adhesión leucocítica
¿?	Enfermedad de Chediak-Higashi
IFNγR1/2, IL-12 p40, IL-12Rβ1	Susceptibilidad mendeliana a la infección por micobacterias
TNFR	Receptor TNF asociado con síndrome periódico
Pirina	Fiebre familiar del Mediterráneo
DEFICIENCIA PRIMARIA DE CÉLULAS B	
Tirosina cinasa de Bruton	Bruton congénito y a-γ-globulinemia
Cadena pesada μ, cadena λ_5	Detención en pro-B, fenotipo Bruton
¿?	Deficiencia de IgA e inmunodeficiencia común variable
¿?	Hipo-γ-globulinemia transitoria del lactante
DEFICIENCIA PRIMARIA DE CÉLULAS T	
¿?	Síndromes de DiGeorge y Nezelof; falla en el desarrollo tímico
PNP	Deficiencia de la purina nucleósido fosforilasa tóxica para las células T
RAG-1/2	Síndrome de Omenn; recombinación parcial de *VDJ*
Promotores clase II del CMH	"Síndrome del linfocito desnudo"
WASP	Síndrome de Wiskott-Aldrich; regulación defectuosa del citoesqueleto
Atm	Ataxia telangiectasia; reparación defectuosa del DNA
CD154(CD40L)	Síndrome de hiper-IgM ligada al cromosoma X
CD3, cadenas e y γ, ZAP-70	Deficiencia severa de células T
INMUNODEFICIENCIA COMBINADA	
¿?	Disgenesia reticular; producción defectuosa de precursores mieloides y linfoides
IL-7R α, γ_c, Jak3	IDSC debida a señalización defectuosa de IL-7
RAG-1/2	Falla completa en la recombinación de *VDJ*
ADA	Deficiencia de adenosina desaminasa; tóxica para las células linfoides tempranas
SAP	Enfermedad linfoproliferativa ligada al cromosoma X; señalización celular defectuosa

Inmunodeficiencia secundaria

- La inmunodeficiencia puede originarse como consecuencia secundaria de desnutrición, trastornos linfoproliferativos, agentes como rayos X y fármacos citotóxicos e infecciones virales.

Síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA)

- El SIDA es resultado de la infección por los retrovirus de RNA HIV-1 y HIV-2.
- El HIV infecta las células T helper por medio de la unión de su gp120 de la envoltura al CD4 y cofactores del receptor quimiocina CCR5 o CXCR4. También infecta macrófagos, microglía, células dendríticas estimulantes de células T y FDC, este último mediante una vía independiente del CD4.
- Dentro de la célula, el RNA es convertido por la transcriptasa inversa a DNA, que puede incorporarse en el genoma del huésped donde permanece inactivo hasta que la célula se active por estimuladores como TNF que aumentan los niveles de NFκB.
- Por lo común hay una fase asintomática prolongada después de que la infección viral aguda temprana ha sido abreviada por una respuesta inmune del LTC CD8 y el virus se atrapa en las FDC en los folículos linfoides donde destruye de manera progresiva la red de células dendríticas.
- Una caída desastrosa en las células T helper CD4 destruye las defensas mediadas por células y deja al paciente abierto a infecciones amenazantes para la vida por microorganismos oportunistas, como *Pneumocystis carinii* y citomegalovirus.
- Hay una batalla tremenda entre el sistema inmune y el virus, con proporciones en extremo elevadas de destrucción viral y reemplazo de células T CD4.
- Por último puede producirse la depleción de células T CD4 como resultado de la patogenicidad directa, la formación de sincitios, la susceptibilidad a la apoptosis y tal vez otros mecanismos.
- El SIDA se diagnostica en un individuo con infecciones oportunistas por niveles bajos de células CD4 pero normales de CD8 en sangre, pruebas cutáneas tipo retardado deficientes, pruebas para anticuerpos virales y antígeno p24 positivos y aislamiento de virus viables o demostración del genoma del HIV por reacción en cadena de la polimerasa (PCR).
- La terapéutica farmacológica antirretroviral altamente activa (HAART), combinación de inhibidores de la transcriptasa inversa y proteasa, puede eliminar el virus detectable en forma temprana en la enfermedad, si bien permanece el virus latente.
- Las vacunas se están dirigiendo a las respuestas Th1, pero es un virus muy difícil de controlar.

Véanse preguntas de opciones múltiples en el sitio web correspondiente (www.roitt.com).

LECTURAS ADICIONALES

Austen K.F., Burakoff S.J., Rosen F.S. & Strom T.B. (eds) (1996) *Therapeutic Immunology*. Blackwell Science, Oxford.

Brostoff J., Scadding G.K., Male D. & Roitt I.M. (eds) (1991) *Clinical Immunology*, Chapters 23-25. Gower Medical Publishing, London.

Buckley R.H. (2000) Advances in immunology: primary immunodeficiency diseases due to defect in lymphocytes. *New England Journal of Medicine* **343**,1313.

Burton D.R. & Parren P.W. (2000) Vaccines and the induction of functional antibodies: time to look beyond the molecules of natural infection? *Nature Medicine* 6,123.

Chapel H., Haeney M., Misbah S. & Snowden N. (1999) *Essentials of Clinical Immunology*, 4th edn. Blackwell Science, Ckford.

Fauci A.S. (1996) Host factors and the pathogenesis of HIV-induced disease. *Nature* **384**,529.

Fischer A. *et al.* (1997) Naturally occurring primary deficiencies of the immune system. *Annual Reviews of Immunology* **15**, 93.

Hammarstrom L., Vorechovsky I. & Webster D. (2000) Selective IgA deficiency (SigAD) and common variable immunodeficiency (CVID). *ainicaland Experimental Immunology* **120**,225.

Ho D.D., Neumann A.U., Perelson A.S., Chen W., Leonard J.M. & Markowit M. (1995) *Nature* **373**, 123; and Wei X., Ghosh S.K., Taylor M.E. *et al.* (1995) *Nature* **373**,

CAPÍTULO 16

Hipersensibilidad

www.el12cirujano.blogspot.com

Introducción, 367
Hipersensibilidad anafiláctica (tipo I), 367
  El fenómeno de anafilaxia, 367
  La anafilaxia se desencadena por la acumulación de receptores de IgE en los mastocitos a través de enlaces cruzados (cross-linking), 367
  Alergia atópica, 370
Hipersensibilidad citotóxica dependiente de anticuerpos (tipo II), 379
  Reacciones tipo II entre los miembros de algunas especies (aloinmunes), 380
  Reacciones de hipersensibilidad tipo II autoinmunes, 382
  Reacciones tipo II frente a fármacos, 382
Hipersensibilidad mediada por complejos inmunes (tipo III), 383
  Lesiones inflamatorias debidas a complejos formados localmente, 384
  Enfermedades producidas por complejos circulantes, 387
  Tratamiento, 389
Hipersensibilidad mediada por células (retardada; tipo IV), 389
  Base celular de la hipersensibilidad tipo IV, 390
  Daño tisular producido por las reacciones tipo IV, 391
Hipersensibilidad estimulatoria (tipo V), 393
Reacciones de hipersensibilidad "innata", 394
Resumen, 395
Lecturas adicionales, 398

INTRODUCCIÓN

Cuando un individuo fue sensibilizado inmunitariamente, el contacto posterior con el antígeno conduce a un refuerzo secundario de la respuesta inmune. Sin embargo, la reacción puede ser excesiva y producir cambios tisulares importantes (hipersensibilidad) si el antígeno se encuentra presente en cantidades relativamente grandes o si el estado inmune humoral y celular está exacerbado. Debe recalcarse que los mecanismos subyacentes de **estas respuestas inmunes inapropiadas que conducen al daño tisular**, a las que denominamos **reacciones de hipersensibilidad**, son aquellos que el organismo huésped emplea de manera habitual para combatir la infección, como ya se trató en el capítulo 13. La hipersensibilidad también puede originarse por la interacción directa del agente incitante con elementos del sistema inmune innato sin la intervención de las respuestas adquiridas.

HIPERSENSIBILIDAD ANAFILÁCTICA (TIPO I)

El fenómeno de anafilaxia

Las primeras referencias de respuestas inapropiadas contra antígenos extraños se relacionan con la **anafilaxia** (hito 16-1). El fenómeno puede reproducirse con facilidad en cobayos, que como los seres humanos son una especie altamente susceptible. Una sola inyección de 1 mg de un antígeno como la albúmina de huevo, no tiene un efecto evidente en un cobayo. Si la inoculación se repite a las 2-3 semanas, el animal sensibilizado reacciona de manera espectacular con síntomas de anafilaxia generalizada; casi de inmediato comienza con sibilancias y, en el término de minutos, muere por asfixia. El examen muestra intensa constricción de los bronquíolos y bronquios; por lo general se observa: i) contracción del músculo liso y ii) dilatación capilar. Reacciones similares se presentan en los seres humanos luego de la picadura de avispas y abejas o de inyecciones de penicilina en individuos apropiadamente sensibles. En muchos casos sólo una inyección oportuna de adrenalina para contrarrestar la contracción del músculo liso y la dilatación capilar, puede evitar la muerte.

Sir Henry Dale reconoció que la histamina imita los cambios sistémicos de la anafilaxia y, además, que la exposición del útero de un cobayo sensibilizado hacia el antígeno induce una contracción inmediata asociada con una desgranulación explosiva de los mastocitos (fig. 1-14), responsable de la liberación de histamina y varios otros mediadores (fig. 1-15).

La anafilaxia se desencadena por la acumulación de receptores de IgE en los mastocitos a través de enlaces cruzados (cross-linking)

Se han reconocido **dos tipos principales de mastocitos**; en la rata un tipo se ubica en la mucosa intestinal, y el otro en el peritoneo y otros tejidos con-

Hito 16-1. Descubrimiento de la anafilaxia

Las personas no son iguales. Desde tiempo inmemorial se han reconocido respuestas idiosincrásicas a estímulos dados y con frecuencia en algunos individuos se observaron reacciones de hipersensibilidad contra agentes medioambientales por lo común inocuos. Lucrecio comentó, hace dos mil años, "Las diferencias son tan grandes que lo que es carne para un hombre es veneno para otro hombre". Sir Thomas More registró que el futuro Rey Ricardo III era consciente de que las frutillas le ocasionaban urticaria y dispuso que se le sirviera una copa de esa fruta en un banquete al que asistía un archienemigo. Cuando se brotó con una espectacular erupción, acusó a su invitado de intentar envenenarlo y lo hizo ejecutar en forma sumaria.

El interés científico en la hipersensibilidad fue despertado por las observaciones de Richet y Portier. Durante un crucero por el Mar del Sur, en el yate del príncipe Alberto de Mónaco, el Príncipe, presumiblemente "picado" por un encuentro con *Physalia* (medusa conocida como el Guerrero Portugués, con tentáculos muy desagradables), sugirió que la producción de toxina por el pez podría ser de interés. Permitamos que Richet y Portier cuenten la historia con sus propias palabras (1902).

"A bordo del yate del príncipe se llevaron a cabo experimentos que demostraron que un extracto acuoso de glicerina de los filamentos de *Physalia* era sumamente tóxico para patos y conejos. De regreso a Francia, no pude obtener *Physalia* y decidí estudiar de manera comparativa los tentáculos de *Actinaria* (anémona de mar). Mientras tratábamos de determinar la dosis tóxica de los extractos, pronto descubrimos que deben pasar algunos días antes de fijarla; en el caso de varios perros, no se murieron hasta el cuarto o quinto día después de la administración o incluso más tarde. Conservamos aquellos en que la dosis había resultado insuficiente para producirles la muerte, con el objeto de llevar a cabo una segunda investigación cuando ellos se habían recuperado. En este momento se produjo un evento imprevisto. Los perros que se habían recuperado eran intensamente sensibles y murieron unos minutos después de la administración de dosis pequeñas. El experimento más típico, cuyos resultados fueron indiscutibles, se llevó a cabo en un perro particularmente sano. Al principio se le administró 0,1 mL de extracto de glicerina sin enfermar: 22 días después, cuando se encontraba en perfecto estado de salud, le administré una segunda inyección de la misma cantidad. En unos pocos segundos el perro se presentó muy enfermo; la respiración se tornó dificultosa; sólo podía arrastrarse en una corta distancia, yacía sobre un costado, comenzó con diarrea, vómitos sanguinolentos y murió en 25 minutos."

El desarrollo de la sensibilidad a sustancias relativamente inocuas fue denominado por estos autores como **anafilaxia**, en contraste con la **profilaxis**.

Cuadro 16-1. *Comparación de dos tipos de mastocitos*

CARACTERÍSTICAS	MASTOCITOS DE LAS MUCOSAS	MASTOCITOS DEL TEJIDO CONECTIVO
	GENERAL	
Abreviatura*	MC_t	MC_{tc}
Distribución	Intestino y pulmón	La mayoría de los tejidos**
Diferenciación favorecida por	IL-3	Factor de fibroblastos
dependencia de célula T	+	–
Receptor Fcε de alta afinidad	2×10^5/célula	3×10^4/célula
	GRÁNULOS	
Coloración con azul Alcian y safranina	Azul y castaño	Azul
Ultraestructura	Rollos	Rejillas/enrejados
Proteasa	Triptasa	Triptasa y quimasa
Proteoglucano	Condroitinsulfato	Heparina
	DESGRANULACIÓN	
Liberación de histamina	+	++
LTC_4: liberación de PGD_2	25 : 1	1 : 40
Bloqueada por cromoglicato disódico/teofilina	–	+

*Basada en la presencia de proteasa en los gránulos.

** Predomina en la piel normal y en la submucosa intestinal.

juntivos. Difieren en una cantidad de aspectos, por ejemplo en el tipo de proteasa y proteoglucano de sus gránulos, y en la respuesta proliferativa de los mastocitos de la mucosa a la citocina de las células T IL-3 (cuadro 16-1). Este último punto es bastante contundente por la demostración llamativa de la proliferación de los mastocitos en la mucosa intestinal durante la infección por ciertos parásitos en roedores intactos pero no en los deplecionados de células T; un efecto es mediado por una combinación de IL-3 e IL-4. Los dos tipos tienen precursores comunes y son interconvertibles según las condiciones ambientales, con el fenotipo MC_t (triptasa) de las mucosas favorecido por la IL-3 y el Mc_{tc} (triptasa y quimiotriptasa) del tejido conectivo promovido por un factor de los fibroblastos. Sin embargo, ambos tipos despliegan un receptor de alta afinidad para IgE (FcεRI: véase fig. 3-18), una propiedad compartida por su contraparte circulante, el basófilo. La fuerza de la unión con el mastocito es evidente por la retención de anticuerpos IgE en un sitio de inyección intradérmica durante varias semanas; la IgG4 en el ser humano también se une al receptor del

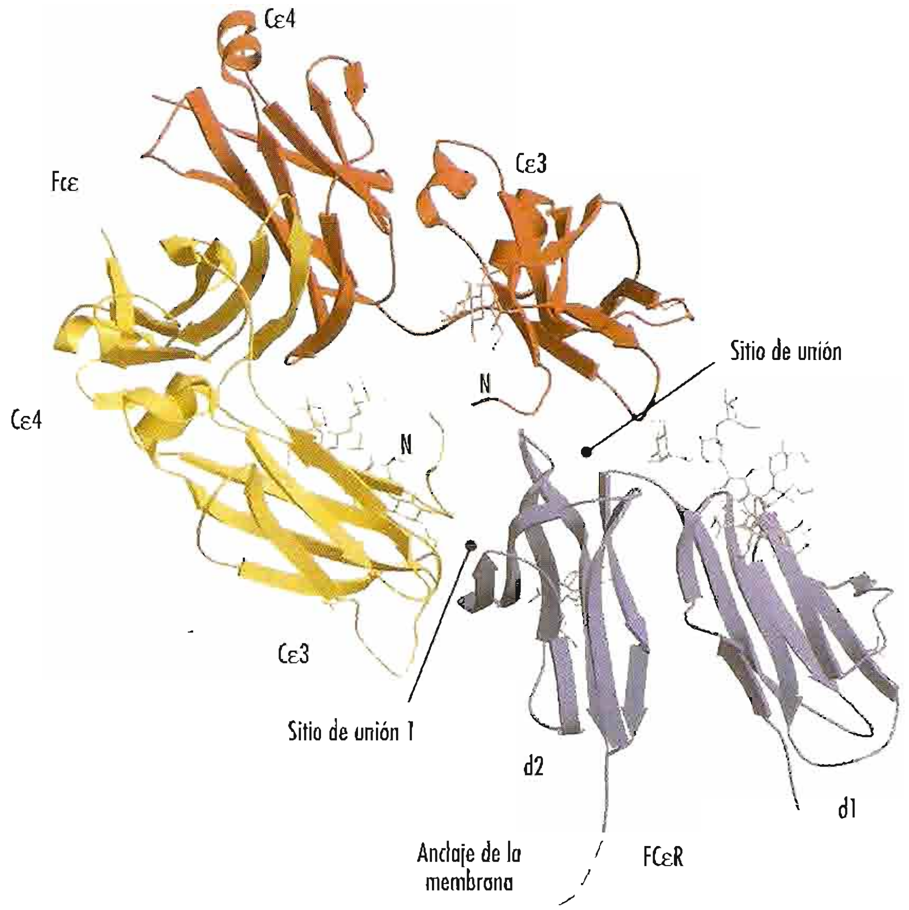


Fig- 16-1. Base estructural de la unión de la IgE al receptor del mastocito de alta afinidad FcεRI. Imagen lateral del complejo con las dos cadenas Fc en amarillo y rojo, y la cadena FcεRIα en azul; se muestran los residuos del hidrato de carbono como varillas. Los dos dominios Cε3 del dímero de la cadena pesada de la IgE se une de manera asimétrica a dos sitios de interacción distintos en la cadena α del receptor. El asa β en un Cε3 se une junto a un dominio d2, mientras que las asas de superficie más la región de unión Cε2-Cε3 en el otro Cε3 interactúan con la cima de la interfase d1-d2. La estequiometría 1: 1 de esta unión asimétrica impide la unión de una IgE a dos moléculas del receptor y asegura que la activación debida a la agregación α sólo tenga lugar a través de uniones multivalentes a la IgE de superficie (véase fig. 16-2). La ranura entre los dominios d2 y d1 que se enfrentan a la membrana plasmática es probable que esté conectada de alguna manera al receptor de la cadena β para proporcionar la información sobre el estado de agregación de la cadena α. (Fotografía proporcionada por gentileza del doctor Ted Jardetzky y reproducida con autorización del Nature Publishing Group.)

mastocito, pero de modo más débil, y se dispersa del sitio de inyección en el curso aproximado de un día. Desde hace tiempo se sabe que los anticuerpos anafilácticos en el ser humano son sobre todo de la clase IgE.

La anafilaxia es mediada por la reacción de lalérgeno con anticuerpos IgE unidos con firmeza a través de sus dominios Cε3 a la cadena α del receptor de alta afinidad (FcεRI; $K_d = 10^{-9}$ a 10^{-10} M) en la superficie del mastocito (fig. 16-1). Los enlaces cruzados de estos anticuerpos IgE por un hapteno multivalente activará la liberación de mediador (fig. 16-2); los trímeros son más eficaces que los dímeros, y los tetrámeros lo son más aun. El acontecimiento crítico es la agregación de los receptores por entrecruzamientos, como se muestra con claridad por la capacidad de los anticuerpos divalentes que reaccionan en forma directa con el receptor para activar el mastocito.

La subunidad FcεRIγ recuerda la cadena ζ del receptor de la célula T (TCR) y parte del FcγRIII de baja afinidad en los macrófagos. El dominio citoplasmático en las subunidades β y γ comparte un motivo de activación basado en tirosina (ITAM) del inmunorreceptor común con CD3γ, δ y ε, TCR ζ η e Ig-α e Ig-β asociado con el receptor de célula B; el truncamiento de este dominio anula la activación mediada por receptor en un sistema reconstituido. La agregación de las cadenas FcεRIα a través de enlaces cruzados de los anticuerpos IgE unidos activa

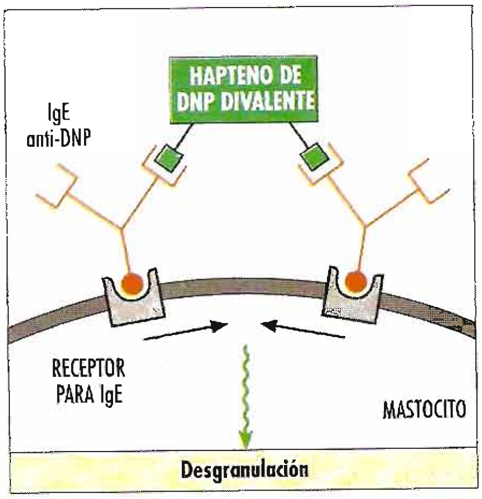


Fig. 16-2. La acumulación de receptores IgE, ya sea por hapteno o anticuerpos multivalentes contra los propios receptores, conduce a la desgranulación de los mastocitos. Los estudios en que se utilizan agregados preformados de IgE de tamaño conocido que estimulan los mastocitos mostraron que la reacción podría ser terminada por el agregado de inhibidores selectivos de cinasa. Pequeños cúmulos estables de receptores continúan para iniciar señales al menos por una hora. Lyn, que es la primera tirosincinasa en ser activada, está por lo común presente en los dominios de membrana caveolares y sólo cosedimentan con el FcεRI cuando estos últimos están agregados.

la proteína tirosincinasa Lyn, asociada con las cadenas β, y si los agregados persisten, esto conduce a la transfosforilación de las cadenas β y γ de otros receptores dentro del cúmulo y reclutamiento de la Syk cinasa (fig. 16-3). La serie posterior de activaciones inducidas por fosforilación conduce al reclutamiento de fosfolipasa C, y las vías Ras y Rac ligada a GTPasa, como se muestra en la figura 16-3. El resultado neto de la cascada bioquímica es la desgranulación, con la consiguiente liberación de mediadores preformados y la síntesis de metabolitos del ácido araquidónico por las vías de la ciclooxigenasa y la lipooxigenasa (véase fig. 1-15). Para recapitular, los mediadores preformados, liberados de los gránulos, son histamina, heparina, proteasa neutra, factores quimiotácticos de eosinófilos y neutrófilos, y factor activador de plaquetas, mientras que los leucotrienos LTB4, LTC4 y LTD4, la prostaglandina PGD2 y los tromboxanos son, en su totalidad, de síntesis reciente. En la actualidad sabemos que también se liberan IL-3, IL-4, IL-5 e IL-6 y el factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos (GM-CSF), un patrón Th2 típico de las células que producen citocinas.

En circunstancias normales estos mediadores ayudan a orquestar el desarrollo de una reacción inflamatoria aguda defensiva (en este contexto es menester recordar que las fracciones del complemento C3a y C5a también pueden activar los mastocitos, aunque no a través de los receptores de IgE). Cuando en condiciones anormales hay una liberación masiva de estos mediadores, como en la enfermedad atópica, predominan sus efectos broncoconstrictores y vasodilatadores, y se convierte en una amenaza característica.

Alergia atópica

Respuestas clínicas contra alérgenos extrínsecos

Por lo menos el 10% de la población sufre, en un grado mayor o menor, alergias que involucran reacciones anafilácticas mediadas por IgE localizadas contra alérgenos como pólenes de césped, caspas animales, excremento de ácaros en el polvo doméstico (fig. 16-4), etc. En el presente un número creciente de alérgenos ha sido clonado y expresado; entre ellos se incluyen **Der p1** de los ácaros y **Lol pI-V** del polen de ballico (*Lolium perenne*). Der p1 es una proteasa que aumenta la permeabilidad de la mucosa bronquial, lo que, en consecuencia, facilita su propio pasaje junto con otros alérgenos por el epitelio, y permite el acceso a las células del sistema inmune y su sensibilización. Produce el clivaje de los receptores de baja afinidad por IgE (CD23) en las células B, lo que reduce de ese modo su impacto negativo en la síntesis de IgE cuando están ocupados por ésta; también cliva la cadena α del receptor para IL-2, que desvía la respuesta inmune a la producción de IgE dependiente de Th2. Cortos atajos para la purificación de alérgenos pueden lograrse por evaluación de las bibliotecas de cDNA para las proteínas de unión a la IgE mediante técnicas de immunoblotting (inmunotransferencia). Ésta fue muy conveniente para la purificación del alérgeno proveniente del veneno de la hormiga saltarina australiana *Myrmecia pilosula*; imagínese lo que hubiera sido intentar acumular kilos de hormigas para aislar el alérgeno por los métodos de fraccionamiento proteico convencionales.

La reacción anafiláctica local a la inyección de antígeno en la piel de pacientes atópicos, se manifiesta con una roncha y eritema (fig. 16-5) de corta duración; se resuelve en alrededor de una hora. A esto suele seguir una respuesta de fase tardía, que comprende un infiltrado de eosinófilos cuyo máxi-

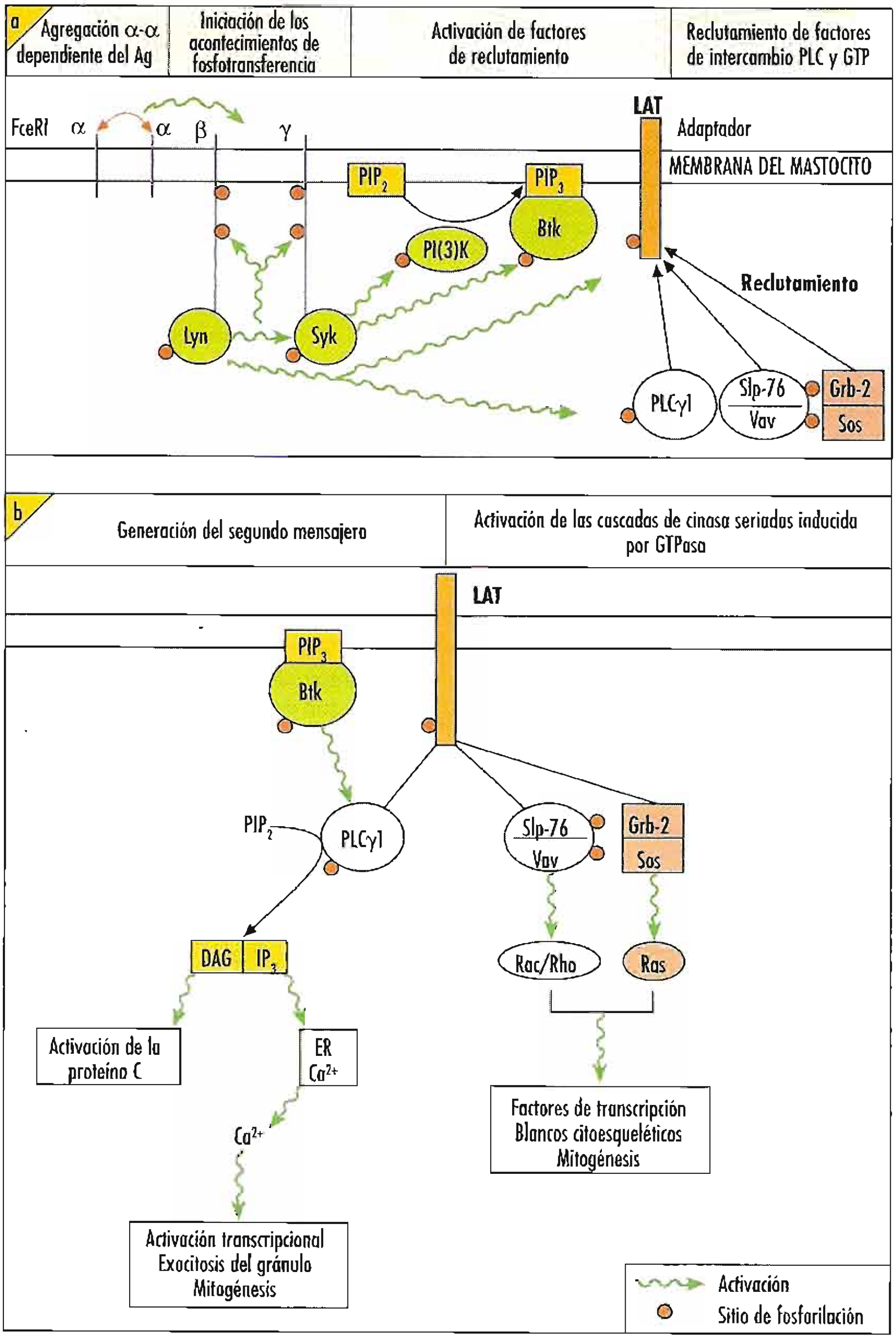

a
Agregación α-α dependiente del Ag
Iniciación de los acontecimientos de fosfotransferencia
Activación de factores de reclutamiento
Reclutamiento de factores de intercambio PLC y GTP
FcεRI α α β γ
PIP₂
PIP₃
Btk
PI(3)K
LAT
Adaptador
MEMBRANA DEL MASTOCITO
Reclutamiento
Lyn
Syk
PLCγ1
Slp-76
Vav
Grb-2
Sos
b
Generación del segundo mensajero
Activación de las cascadas de cinasa seriadas inducida por GTPasa
LAT
PIP₃
Btk
PIP₂
PLCγ1
Slp-76
Vav
Grb-2
Sos
DAG
IP₃
Rac/Rho
Ras
Activación de la proteína C
ER Ca²⁺
Ca²⁺
Activación transcripcional
Exocitosis del gránulo
Mitogénesis
Factores de transcripción
Blancos citoesqueléticos
Mitogénesis
Activación
Sitio de fosforilación

Fig. 16-3. Activación del mastocito. a) Acontecimientos tempranos en la señalización a través del receptor de alta afinidad de IgE, FcεRI. La agregación de las cadenas FcεRIα a través del entrecruzamiento de la IgE unida por el antígeno multivalente (alérgeno) alerta las cadenas β y γ del receptor, lo que conduce a la activación de las proteínas tirosincinasas Lyn y Syk unidas. Ellas, a su vez, fosforilan y activan la cinasa PI(3), la tirosincinasa de Bruton (Btk) y la proteína del adaptador de membrana LAT que recluta la fosfolipasa Cγ1 y las moléculas del adaptador involucradas en la activación de las cascadas GTPasa/cinasa. **b)** La fosfolipasa Cγ1 activada genera el diacilglicerol (DAG), el cual se dirige a la proteína cinasa C, mientras el inositol (1,4,5)P$_3$ (IP$_3$) eleva el Ca^{2+} citoplasmático por la depleción de las reservas ER. La concentración elevada de calcio activa los factores transcripcionales y produce la exocitosis de los gránulos. Los complejos Grb-2/Sos y Slp-76/Vav, también asociados con el adaptador LAT, activan las cascadas de cinasas en serie Ras y Rac /Rho inducidas por GTPasa, respectivamente, que conducen a la activación de factores de transcripción y reestructuraciones del citoesqueleto de actina. (Figura diseñada en lo esencial por la doctora Helen Turner, basada en el artículo de Turner H. & Kinet J. P. (1999) *Nature* (Suplemento en Allergy and Asthma) **402**, B24.)

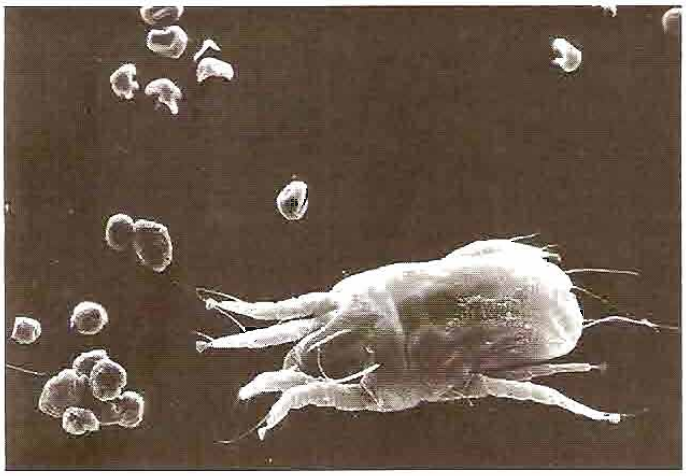


Fig. 16-4. Ácaro del polvo doméstico, una causa importante de la enfermedad alérgica. La microfotografía electrónica muestra este ácaro bastante desagradable que recibe el nombre de *Dermatophagoides pteryonyssimus* y las pelotillas fecales en la parte inferior izquierda, que constituyen la mayor fuente de alérgeno. Los granos bicóncavos de polen (arriba a la izquierda) mostrados para su comparación indican que el tamaño de la partícula puede ser transportada por el aire y alcanzar los pulmones. El ácaro propiamente dicho es demasiado grande para ser aerotransportado. (Reproducido por cortesía del doctor E. Tovey.)

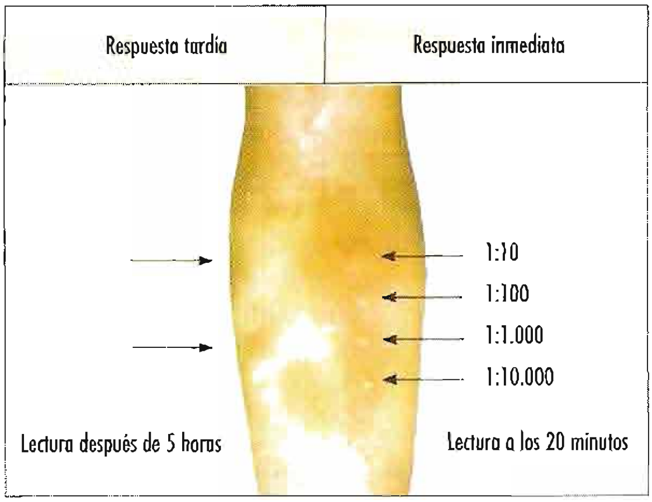


Fig. 16-5. Alergia atópica. Pruebas cutáneas por punción con alérgeno de polen de césped en un paciente con la típica fiebre de heno del verano. Las pruebas cutáneas se llevaron a cabo 5 horas (lado izquierdo) y 20 minutos (lado derecho) antes de tomar la fotografía. Las pruebas del lado derecho muestran una típica titulación de punto final de una típica reacción inmediata tipo I de roncha y eritema. La reacción cutánea de fase tardía (lado izquierdo) puede observarse con claridad a las 5 horas, sobre todo si fue precedida por una gran respuesta inmediata. Las cifras representan la dilución del alérgeno.

mo se alcanza en alrededor de 5 horas. El contacto del alérgeno con la IgE unida a la célula en el árbol bronquial, la mucosa nasal y los tejidos conjuntivales libera mediadores de la anafilaxia que producen síntomas de **asma** o **rinitis y conjuntivitis alérgicas** (fiebre de heno) según sea el caso. Una parte de los pacientes en quienes se desarrollan las respuestas de fase tardía después del desafío bronquial con el alérgeno, en el futuro presentará **asma**. Esta enfermedad afecta a 155 millones de individuos en todo el mundo y su tratamiento genera un gasto de seis mil millones de dólares por año sólo en los Estados Unidos. Estos pacientes se pueden incluir en tres categorías principales.

1. La mayoría, que son los **asmáticos extrínsecos** asociados con **atopia**, o sea, con predisposición genética para sintetizar niveles inapropiados de IgE específica para los alérgenos externos.
2. Asmáticos intrínsecos no atópicos.
3. **Asmáticos ocupacionales** expuestos a proteínas específicas o sustancias químicas de bajo peso molecular.

La biopsia y el lavado bronquial de los pacientes asmáticos revelan un compromiso indudable de los **mastocitos y eosinófilos**, que son las principales células efectoras que secretan mediadores más importantes, mientras que las células T proporcionan el microambiente requerido para sostener la respuesta inflamatoria crónica, que es una característica esencial de la histopatología en cada categoría (fig. 16-6). La resultante obstrucción variable del flujo aéreo y la respuesta bronquial excesiva son características clínicas y fisiológicas cardinales de la enfermedad.

El rasgo atópico también puede manifestarse como **dermatitis atópica** (fig. 16-7), con el ácaro del polvo ambiental, gatos domésticos y cucarachas alemanas que a menudo son los agresores del medio ambiente. Si recordamos la inflamación en el asma, las pruebas cutáneas del parche con Der p1 en estos pacientes con eccema producen un infiltrado de eosinófilos, células T, mastocitos y basófilos. La cantidad de individuos afectados es comparable a la de afectados por asma, lo cual puede ser una sorpresa para algunos.

El conocimiento de la importancia de la sensibilización de IgE contra **los alérgenos de alimentos** en el intestino aumentó de manera espectacular. La sensibilización a la clara de huevo y a la leche de vaca puede incluso presentarse en la infancia temprana a través del amamantamiento, ya que el antígeno es transmitido en la leche de la madre. Los aditivos de los alimentos, como los agentes a base

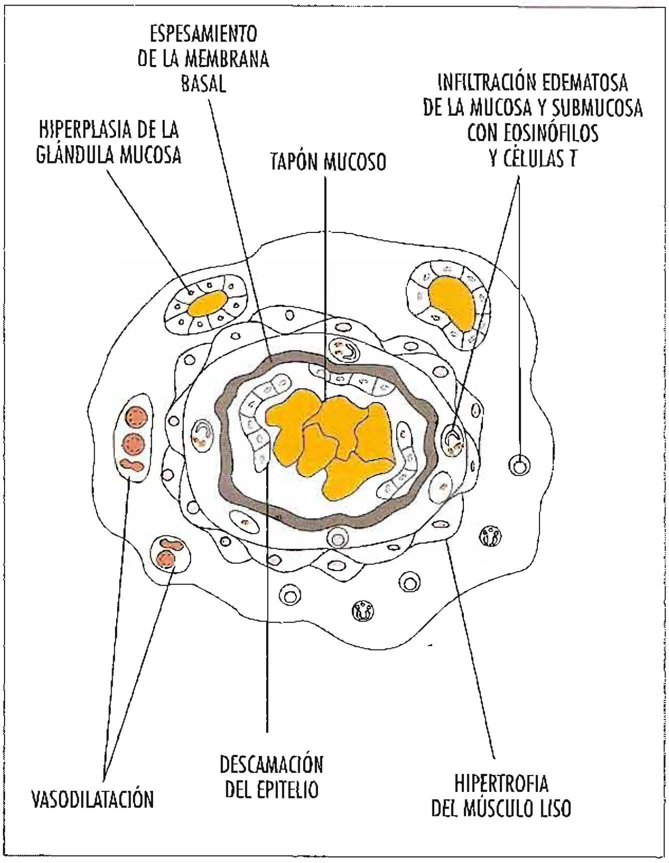

ESPESAMIENTO DE LA MEMBRANA BASAL
HIPERPLASIA DE LA GLÁNDULA MUCOSA
TAPÓN MUCOSO
INFILTRACIÓN EDEMATOSA DE LA MUCOSA Y SUBMUCOSA CON EOSINÓFILOS Y CÉLULAS T
VASODILATACIÓN
DESCAMACIÓN DEL EPITELIO
HIPERTROFIA DEL MÚSCULO LISO

Fig. 16-6. Cambios patológicos en el asma. Diagrama de un corte de una vía aérea en el asma severa.

de sulfitos, pueden producir reacciones adversas. En los mastocitos del tracto gastrointestinal, el contacto de los alimentos con la IgE específica puede producir reacciones locales, como diarrea y vómitos, o permitir que el alérgeno penetre en el organismo mediante la producción de un cambio en la permeabilidad del intestino a través de la liberación de mediadores; los alérgenos pueden formar complejos con los anticuerpos y causar lesiones distales mediante su depósito en las articulaciones, o bien se difunden libremente a otros sitios sensibilizados, como la piel (fig. 16-7) o pulmones, donde causarán una reacción anafiláctica local extensa. Así, en individuos sensibilizados de manera apropiada comer frutillas puede producir reacciones urticarianas y el huevo precipitará un ataque asmático. El papel del intestino sensibilizado actuando como una "puerta" para permitir la entrada del alérgeno es sugerido con fuerza por los experimentos en los que el cromoglicato de sodio oral, un estabilizador de los mastocitos, previno el asma que sigue a la ingestión del alimento desencadenante (fig. 16-8).

La **alergia anafiláctica a los fármacos** se manifiesta en las respuestas espectaculares a fármacos como

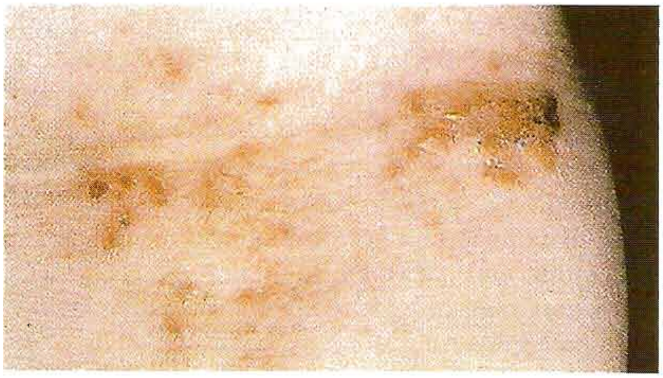


Fig. 16-7. Una reacción de eccema atópico en el hueco poplíteo de un niño alérgico al arroz y al huevo. (Proporcionada por gentileza del profesor J. Brostoff.)

la penicilina, la que por acomplamiento covalente se une a proteínas haptenos para inducir la síntesis de IgE. En el caso de la penicilina, el anillo betalactámico se une al grupo ε-amino de la lisina para formar el determinante peniciloílo. La especificidad fina de los anticuerpos IgE permite la discriminación entre fár-

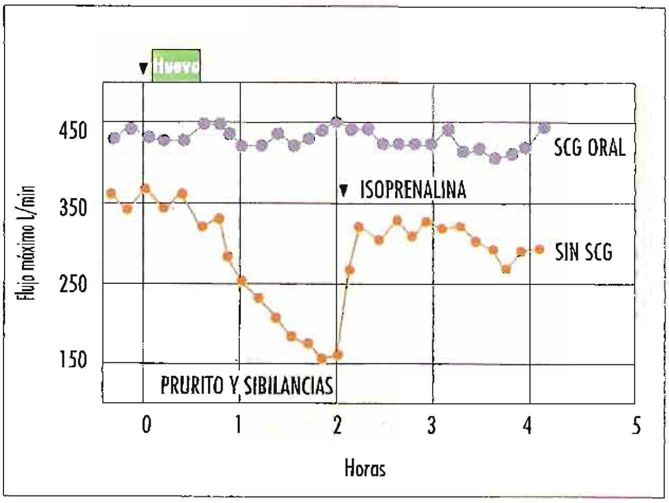


Fig. 16-8. Papel de la sensibilidad del intestino en el desarrollo del asma a los alérgenos de alimentos. Un paciente desafiado con la alimentación con huevo desarrolló asma en el curso de horas, como se mostró aquí por la prueba de la función pulmonar deprimida al determinar el flujo aéreo máximo; los síntomas en la etapa de órgano terminal fueron contrarrestados por agonistas del adrenorreceptor β como la isoprenalina. Sin embargo, el cromoglicato de sodio oral (SCG), que impide la activación del mastocito específico de antígeno, también previene el ataque de asma después del desafío oral con huevo. Nótese que el SCG por vía oral no tiene efecto sobre la respuesta de un asmático al alérgeno inhalado. (De Brostoff J. (1986) en Brostoff J. & Challacombe S J (eds) *Food Allergy*, pág. 441. Baillière-Tindall, Londres, reproducido con autorización.)

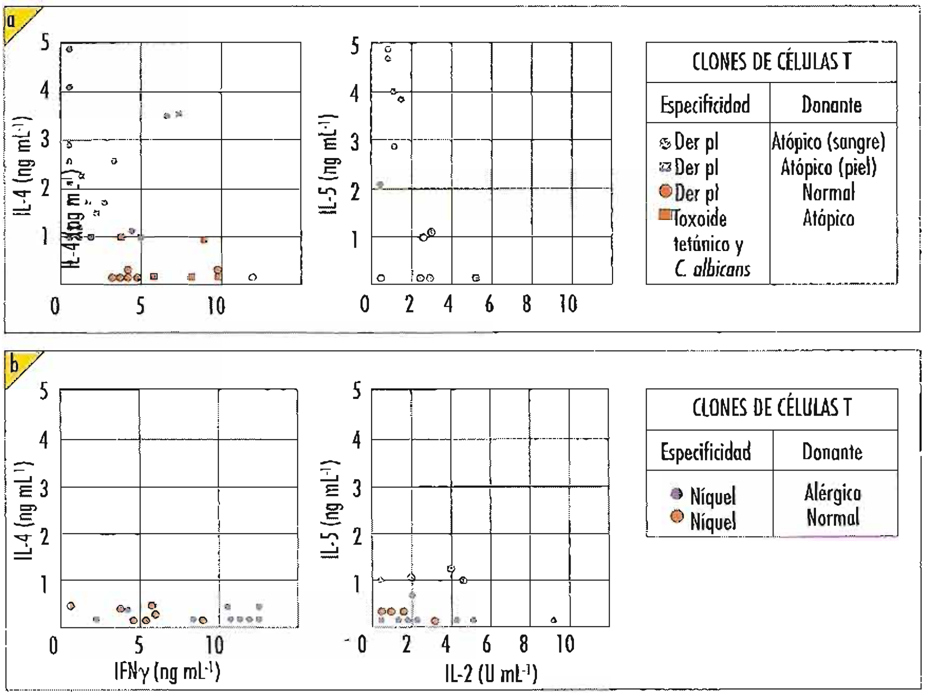


Fig. 16-9. **El predominio de Th2 en la alergia atópica mostrada por los perfiles de citocina de clones de células T CD4$^+$ específicos de antígenos a partir** de (**a**) pacientes con alergia atópica tipo I y (**b**) sujetos con sensibilidad de contacto tipo IV, en comparación con controles normales. Cada punto representa el valor de un clon individual. Los clones Th1 arquetípicos presentan altos niveles de IFNγ e IL-2 y bajos niveles de IL-4 e IL-5; los clones Th2 muestran la inversa. El alto nivel de IL-4 dirige el cambio a la producción de IgE por las células B y promueve más la desviación hacia Th2, lo cual es reforzado por la supresión de células Th1 por NO· derivado de las células epiteliales de la vía aérea estimuladas por citocina. (Datos de Kapsenberg M.L., Wierenga E. A., BOS J.D. & Jansen H.M. (1991) *Immunology Today* 12,392.)

macos muy similares, porque algunos pacientes pueden ser alérgicos a la amoxicilina y tolerar la bencilpenicilina, de la cual sólo difiere por modificaciones muy pequeñas en las cadenas laterales.

Mecanismos patológicos en el asma

Debemos ahora estudiar con más profundidad aquellos acontecimientos que generan la cronicidad del asma. Recuérdese que hay una *fase temprana* de la respuesta bronquial al antígeno inhalado, la cual en esencia involucra los mediadores de los mastocitos, y una fase inflamatoria tardía dominada por eosinófilos. **Ambas fases son dependientes de IgE,** como lo demuestra su marcada atenuación en la gran mayoría de los asmáticos, tratados durante alrededor de 9 semanas con un anticuerpo monoclonal de origen humano (RhuMAb-E25), específico para el sitio de unión de la IgE humana a su receptor de alta afinidad, que reduce la IgE a niveles casi indetectables y disminuye la expresión de FcεRI. Los mastocitos activados contribuyen con algo al reclutamiento de eosinófilos, mediante la secreción de un factor quimiotáctico que atrae eosinófilos y triptasa; estos pueden activar un receptor activado por proteasa (PAR-2) en la superficie de las células endoteliales y epiteliales, lo que conduce a la producción de citocina y a la expresión de moléculas de adhesión que de manera selectiva reclutan eosinófilos y basófilos. En la actualidad se considera que el disparador más importante de la reacción de fase tardía es la **activación de macrófagos alveolares**, a través de la interacción del alérgeno con IgE unida a los receptores de baja afinidad (FcεRII; CD23), lo que conduce a un aumento significativo de la producción de TNF e IL-1β. Estas citocinas estimulan la liberación de poderosas **sustancias quimiotácticas para eosinófilos**: eotaxina (CCL11), RANTES (CCL5) y MCP5 (CCL12) (véase pág. 210) provenientes de las células epiteliales y fibroblastos bronquiales. Nótese también que la eotaxina y RANTES pueden contribuir de modo directo a la inflamación local, por la desgranulación de basófilos independiente de IgE.

Ahora ingresa un nuevo jugador al campo: las células T sensibilizadas viajan hacia el sitio inflamado y son atraídas con fuerza por la eotaxina. Dado que la respuesta de células T está desviada intensamente hacia **la subpoblación Th2 en el asma** (fig. 16-9), el encuentro con el alérgeno en la célula presentadora del antígeno promoverá la síntesis de IL-4, IL-5 e IL-13. La IL-4 estimula más aun la liberación de eotaxina; la IL-5, por su parte, aumenta los receptores de quimiocina en los eosinófilos, mantiene su supervivencia a través de un efecto inhibidor de la apoptosis natural y está involucrada en su reclutamiento en el largo plazo a partir de la médula ósea.

Las cosas ahora parecen empeorar para los tejidos bronquiales; una multitud de factores contribuye a la disfunción de la vía aérea inducida por el alérgeno: i) una sopa virtual de broncoconstrictores baña las células del músculo liso; entre ellos los leucotrienos tienen importancia especial; ii) edema de la pared de la vía aérea, iii) regulación nerviosa alterada del tono de la vía aérea, a través de la unión de la proteína básica principal (en inglés, main basic protein - MBP) de los eosinófilos a los autorreceptores M2 en las terminaciones nerviosas, con aumento de la liberación de acetilcolina; iv) descamación de las células epiteliales de la vía aérea debido a la acción tóxica de la MBP; hay una correlación marcada entre el número de células descamadas en el líquido de lavado broncoalveolar y la concentración de MBP; v) hipersecreción de moco debido a la IL-13 y, en menor grado, a IL-4, leucotrienos y factor activador de plaquetas que actúa en las glándulas de la submucosa y en sus elementos nerviosos controladores; por último, vi) una respuesta tipo reparadora que involucra la producción de factor de crecimiento de fibroblastos, TGFβ y factor de crecimiento derivado de las plaquetas, la cubierta de colágeno, la cicatrización y el tejido fibroso, y la hipertrofia de músculo liso, lo que conduce a un estrechamiento exagerado de las vías aéreas en respuesta a una variedad de estímulos ambientales (fig. 16-6). La amplia gama de citocinas y mediadores, producida por las células epiteliales y endoteliales pulmonares, fibroblastos y células del músculo liso, puede ser responsable de la persistencia de la inflamación de la vía aérea y los cambios estructurales permanentes en las víctimas de la enfermedad crónica, incluso en ausencia o en aparente ausencia de exposición continua a alérgenos inhalados a los que los sujetos están sensibilizados, un estado donde sería esperable que la inmunoterapia convencional no sea beneficiosa.

A diferencia de los asmáticos atópicos, en los **asmáticos intrínsecos** las pruebas cutáneas son negativas a los aeroalérgenos comunes, sin antecedentes clínicos o familiares de alergia, niveles normales de IgE sérica y falta de anticuerpos IgE específicos detectables contra alérgenos comunes. No obstante, estas personas se asemejan a los pacientes atópicos en varios aspectos importantes: las biopsias bronquiales muestran un aumento de la expresión de IL-4, IL-13, RANTES y eotaxina, y del mRNA para el transcripto de línea germinal ε y la cadena pesada ε, que sugiere síntesis de IgE local. ¿Ejerce algún papel la IgE específica para virus o para los autoanticuerpos de IgE contra el FcεRI?

El infiltrado inflamatorio en la **dermatitis atópica** se asemeja mucho al del asma. Las células dendríticas epidérmicas presentan un incremento marcado de la expresión de FcεRI y un alérgeno entrante las activará ya sea de manera directa o como complejos alérgeno-IgE; a su vez, el TNF, la IL-β y el GM- CSF que ellas producen estimularán la liberación de sustancias quimiotácticas de eosinófilos, RANTES y eotaxina, a partir de los queratinocitos y los fibroblastos. Una quimiocina CC de los queratinocitos, de identificación reciente, CTACK (CCL27; véase pág. 210), atrae, con preferencia hacia la piel, células T de memoria CLA$^+$ guía; éstas constituyen el 80-90% de las células T en el infiltrado y son responsables de la respuesta específica al alérgeno agresor.

Factores etiológicos en el desarrollo de la alergia atópica

Hay una intensa predisposición familiar para el desarrollo de la alergia atópica (fig. 16-10). Sin duda, un factor es la capacidad global para sintetizar el isotipo de IgE, o sea, cuanto más alto es el nivel de IgE en sangre, mayor es la probabilidad de que el individuo se torne atópico (fig. 16-10). Los estudios genéticos muestran que esto se relaciona con el cromosoma 13q. También se han establecido uniones para otros factores que contribuyen a la atopia: al cromosoma 11q que involucra la cadena FcεRIβ, al 2q que contiene el cúmulo IL-1 y al 5q dentro del cúmulo génico IL-4, IL-9, IL-13, GM-CSF y CD14. Un cambio de base C → T en 159 bases, aguas arriba del sitio de comienzo de la transcripción para CD14, (el receptor de alta afinidad para la endotoxina LPS bacteriana), se asocia de manera significativa con niveles altos de CD14 soluble y niveles bajos de IgE. ¿Qué relevancia podría tener esto en la enfermedad atópica? Bien, la exposición excesiva de bebés a LPS bacteriano en casas sucias, granjas y casas con perros tenderá a estimular las respuestas de Th1 a expensas de Th2 y podría ser la responsable de la incidencia mucho más baja de atopia en estos niños. De hecho, un estudio de vacunación con BCG en niños japoneses reveló una correlación inversa intensa entre el desarrollo de reacciones de tuberculina tipo retardado y la susceptibilidad al asma. La noción actual es que la

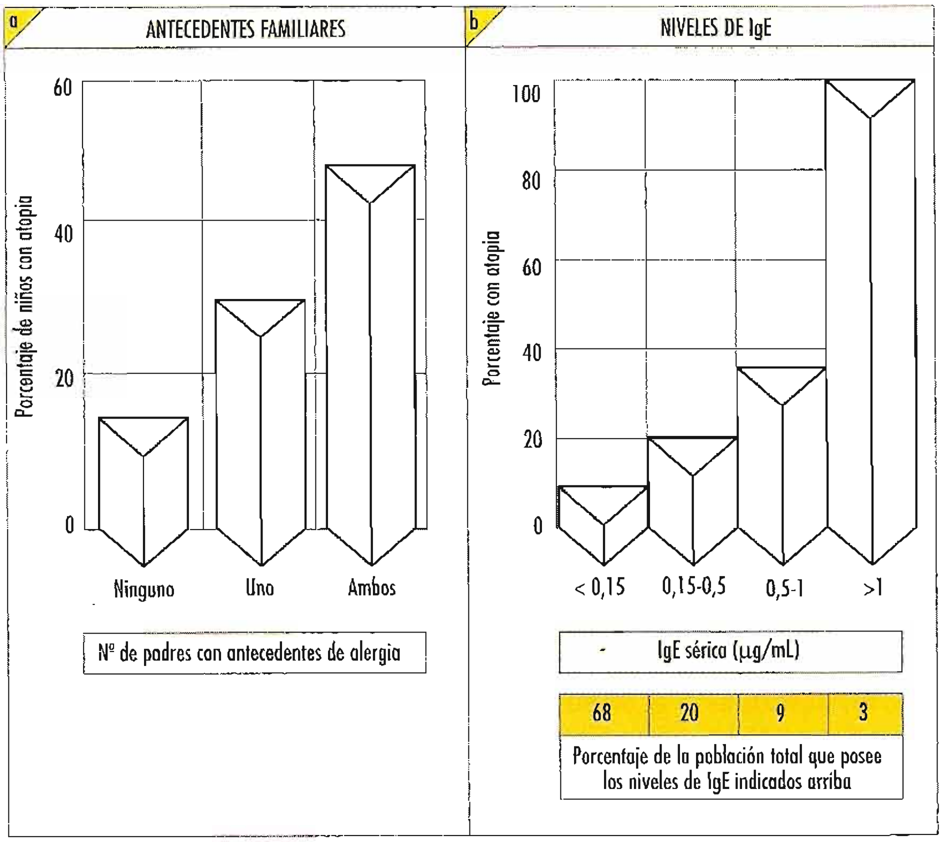


Fig. 16-10. Factores de riesgo en la alergia: (**a**) antecedentes familiares; (**b**) niveles de IgE, cuanto mayor es la concentración de IgE sérica, mayor es la probabilidad de desarrollar atopia.

buena higiene en los años tempranos es mala para usted y es responsable del aumento constante de la prevalencia de atopia, la exposición a infecciones inductoras de IL-12/Th1 sesga el "inmunoestado" del lactante con más firmeza hacia el extremo Th1 del espectro y se aleja de la propensión, relacionada con Th2, a sintetizar IgE. Esto puede estar simplificado en exceso, pero es una buena historia, perdón, hipótesis. Otras influencias ambientales, como el hábito de fumar y el uso de betabloqueantes durante el embarazo, aumenta la incidencia de atopia en la descendencia, como lo hace el contacto con proteínas altamente alergénicas como leche de vaca, huevos, peces, nueces y Der p1 antes que los mecanismos protectores de las mucosas, en especial la IgA, se establezcan de manera razonable. El cuento de las antiguas esposas que dice "el amamantamiento es mejor" parecería tener mérito, aunque en algunos casos cantidades pequeñas de alérgenos de la dieta pueden encontrarse en la leche materna.

Pruebas clínicas para la alergia

La sensibilidad por lo común se evalúa por la respuesta al desafío intradérmico con el antígeno. La liberación de histamina y otros mediadores produce rápidamente una **roncha y eritema** (fig. 16-5), que se hacen máximos dentro de los 30 minutos y luego se aplacan. A estas reacciones inmediatas de roncha y eritema puede seguir una reacción de fase tardía (véase fig. 16-5), que en oportunidades perdura durante 24 horas y sugiere con firmeza los hallazgos observados luego del desafío de la mucosa bronquial y nasal de sujetos alérgicos; también se caracterizan por un denso infiltrado con eosinófilos y células T.

La correlación entre las respuestas de la prueba cutánea por punción y la prueba con **radioalergoabsorbentes** (en inglés, *r*adio*a*llergosorbent *t*est, RAST, véase pág. 125) para la IgE sérica específica para el alérgeno es bastante buena. En algunos casos el desafío intranasal con el alérgeno puede provocar una respuesta aun cuando ambas pruebas sean negativas, lo que es posible que sea resultado de la síntesis local de anticuerpos IgE.

La presencia de proteínas secretadas por los mastocitos o los eosinófilos en suero u orina podría proporcionar importantes marcadores sustitutos de enfermedad y predecir exacerbaciones.

Tratamiento

Si uno considera la secuencia de reacciones desde la exposición inicial al alérgeno directo a lo largo

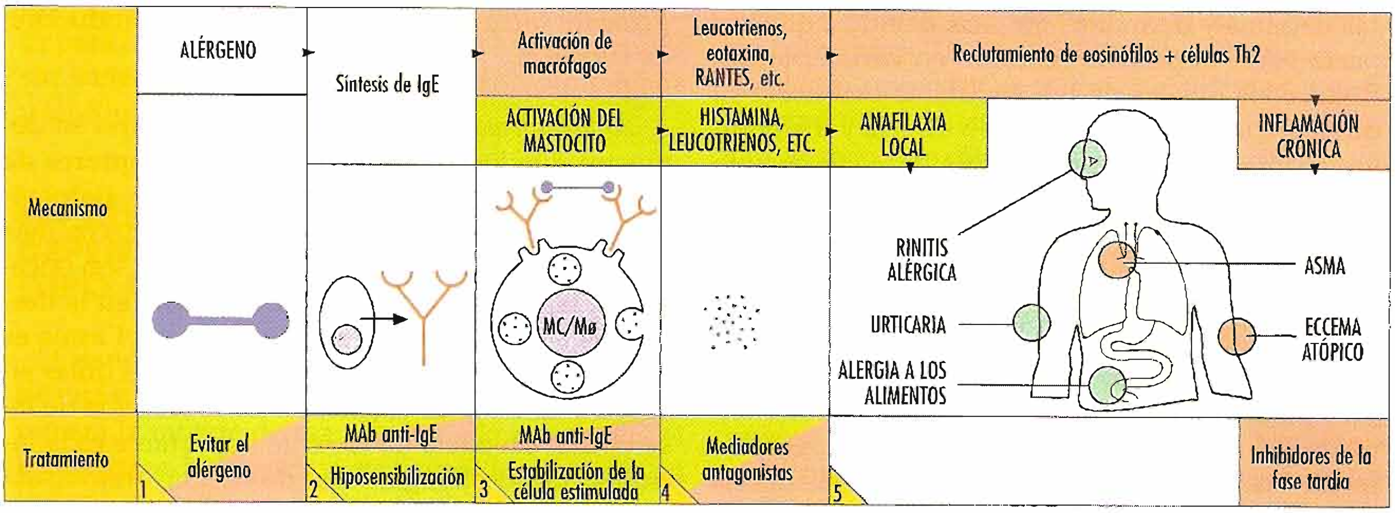

Mecanismo
ALÉRGENO
Síntesis de IgE
Activación de macrófagos
Leucotrienos, eotaxina, RANTES, etc.
Reclutamiento de eosinófilos + células Th2
ACTIVACIÓN DEL MASTOCITO
HISTAMINA, LEUCOTRIENOS, ETC.
ANAFILAXIA LOCAL
INFLAMACIÓN CRÓNICA
MC/Mø
RINITIS ALÉRGICA
URTICARIA
ALERGIA A LOS ALIMENTOS
ASMA
ECCEMA ATÓPICO
Tratamiento
1
Evitar el alérgeno
2
MAb anti-IgE
Hiposensibilización
3
MAb anti-IgE
Estabilización de la célula estimulada
4
Mediadores antagonistas
5
Inhibidores de la fase tardía

Fig. 16-11. Alergias atópicas y su tratamiento: sitios de respuestas locales y tratamientos posibles. Los acontecimientos y tratamientos que relacionan la anafilaxia local en verde y la inflamación crónica en rojo.

de la producción de la enfermedad atópica, puede verse que varios puntos de la cadena son blancos legítimos para el tratamiento (fig. 16-11).

Evitar el alérgeno. Evitar el contacto con los alérgenos *potenciales* a menudo es poco práctico, aunque, para dar un ejemplo, se desalienta la alimentación con leche de vaca de los lactantes cuando son demasiado pequeños. Después de la sensibilización, es evidente que vale la pena evitar la exposición cuando ello sea posible, si bien la renuencia de algunos padres a deshacerse del gato de la familia para detener las sibilancias del pequeño Algernon a veces es bastante sorprendente.

Modulación de la respuesta inmune. Los esfuerzos destinados a la desensibilización inmunitaria de los pacientes, por la inyección subcutánea repetida de cantidades pequeñas de alérgeno, tienen al menos el mérito de una larga historia. En sujetos individuales pueden conducir a una mejoría importante de la anafilaxia por veneno de insectos o de la fiebre del heno, pero es menos efectiva en el asma. La inyección de DNA desnudo que codifica para el alérgeno de ácaros del polvo doméstico directamente dentro del músculo, o la administración oral de DNA de plásmido recubierto con quitosán, que contiene un gen dominante del alérgeno de maní, redujo la síntesis de IgE y brindó buena protección contra el desafío anafiláctico en ratones; pero en los seres humanos sensibilizados la expresión endógena en el largo plazo del alérgeno podría conducir a situaciones de desenlace desconocido. El propósito del tratamiento de hiposensibilización era estimular la síntesis de anticuerpos "bloqueadores", cuya función es desviar el alérgeno del contacto con la IgE unida al tejido. Mientras esto bien puede ser un factor contribuyente, la disminución de la síntesis de IgE por la ocupación del receptor de FcγRIIB (véase pág. 55) en las células B, por IgG específica para el alérgeno ligada a las moléculas del alérgeno unidas a los receptores de IgE de superficie, también parece probable (véase pág. 227; veáse cap. 11 sobre la regulación de IgG de la producción de Ac). Además, si la cooperación del linfocito T es importante para la síntesis de IgE y la patogenia mediada por eosinófilos, los efectos beneficiosos de la inyección de antígeno también pueden estar mediados por la inducción de células T tolerantes, anérgicas o supresoras. Un cambio de Th2 a Th1 por la inyección de *Mycobacterium vaccae* muertas por calor o la administración de epítopos peptídicos que inducen tolerancia o antagonistas son otras modalidades terapéuticas posibles. Felizmente la mayoría de los pacientes responde a un número muy limitado de epítopos de células T en un alérgeno dado; en consecuencia, puede que no sea necesario adaptar el péptido terapéutico para cada individuo. Los ensayos clínicos con altas dosis de péptidos derivados de Feld1 provenientes del alérgeno del gato han dado como resultado una disminución de la sensibilidad, si bien pueden inducirse respuestas tardías aisladas contra el alérgeno por activación directa de las células T. Hay razones para considerar la hiposensibilización futura de niños con dos padres asmáticos que tienen al menos una probabilidad del 50% de desarrollar la enfermedad.

El anticuerpo monoclonal humanizado anti-IgE, RhuMAb-E25, dirigido contra el dominio de unión FcεRI de IgE (véase pág. 369) puede ser una excitante terapéutica nueva para las formas severas de asma y dermatitis atópica, debido a que impacta sobre el proceso mórbido en varios puntos. Reduce los niveles de IgE circulante casi hasta su desaparición por neutralización directa y disminuye la síntesis de IgE por unión al FcγRIIB cuando establece enlaces cruzados con la inmunoglobulina de superficie sobre las células B productoras de IgE (véase el efecto de la IgG específica de alérgeno mencionado antes).

Estabilización de las células estimuladas. Esta caída precipitada en la IgE circulante causada por RuhMAb-E25 disminuye la ocupación de los receptores de FcεRI de los mastocitos y reduce la síntesis del receptor, quizá a través de la falta de retroalimentación positiva mediada por las cadenas β. Un empuje adicional para la disminución de la biosíntesis del receptor puede estar proporcionado por enlaces cruzados del dominio de unión Fcε libre sobre la superficie de los mastocitos (véase fig. 16-1) y la ocupación posterior del FcγRIIB. La señalización a través del alérgeno será, como es obvio, menos eficaz porque sólo se activará una pequeña cantidad de receptores por célula. Por último, y de ninguna manera menor, mecanismos similares operarán para limitar la activación de macrófagos inducida por el alérgeno y por eso el reclutamiento de eosinófilos. En el nivel farmacológico se ha obtenido mucho alivio con agentes como la isoprenalina por inhalación y el **cromoglicato de sodio**, un miembro de la familia de las cromonas que mantiene los mastocitos resistente a la activación. El cromoglicato de sodio bloquea la actividad de los canales del cloro y mantiene las células en un estado fisiológico de reposo normal, el cual es probable que sea el responsable de sus efectos inhibitorios en una amplia gama de funciones celulares, como la desgranulación de los mastocitos, la quimiotaxis de eosinófilos y neutrófilos, y la liberación de mediadores y la broncoconstricción refleja. Algunos o la totalidad de estos efectos son responsables de sus acciones antiasmáticas. Extrañamente, también inhibe la liberación de IgE a partir de las amígdalas en sujetos no atópicos estimulados con IL-4.

La activación de los macrófagos a través de la interacción del alérgeno con la IgE unida a la superficie es con claridad un factor de iniciación fundamental de las reacciones tardías, como se mencionó antes, y la resistencia contra este estímulo puede lograrse de manera muy eficaz con los corticosteroides. Sin discusión, las **inhalaciones de corticosteroides** revolucionaron el tratamiento del asma. Su acción principal es suprimir la transcripción de múltiples genes inflamatorios, que en el contexto presente incluyen los que codifican la producción de citocinas.

Antagonismo de mediadores. Hace tiempo se demostró que los **antagonistas de los receptores de histamina H_1** son útiles en el tratamiento sintomático de la enfermedad atópica. Los fármacos más nuevos, como loratadina y fexofenadina, son eficaces en la rinitis y para reducir el prurito en la dermatitis atópica, aunque su beneficio en el asma es escaso. La cetirizina tiene además efectos útiles en el reclutamiento de eosinófilos en la reacción de fase tardía. Un adelanto reciente importante es la introducción de **β_2-agonistas** de acción prolongada inhalados, como el salmeterol y formoterol, que son broncodilatadores y protegen de la broncoconstricción durante más de 12 horas. Los potentes **antagonistas del leucotrieno**, como el pranlukast, también bloquean los desafíos constrictores y muestran una llamativa eficacia en ciertos pacientes, en particular en los asmáticos sensibles a la aspirina (lógico si se piensa en ello). En el nivel experimental, un anticuerpo contra la IL-5 tuvo un efecto en un modelo de alergia en primates que perduró varios meses.

La **teofilina** fue introducida para el tratamiento del asma hace más de 50 años y sigue siendo el fármaco más indicado para el asma en todo el mundo. Como **inhibidor de la fosfodiesterasa (PDE)** aumenta el cAMP intracelular, lo que en consecuencia produce broncodilatación, inhibición de la prolongación de la supervivencia de los eosinófilos inducida por IL-5 y tal vez la supresión de la migración de eosinófilos en la mucosa bronquial. Buenas noticias para el paciente. Hay muchas formas de isoenzima del PDE y en la actualidad se están desarrollando broncodilatadores como la benafentrina.

Ataque de la inflamación crónica. Ciertos fármacos impiden la enfermedad atópica en más de una fase. La **cetirizina** es un ejemplo puntual, con sus efectos duales en el receptor de histamina y en el reclutamiento de eosinófilos. Los **corticosteroides** parecen actuar en casi todas las fases; aparte de su papel estabilizador de los macrófagos, inhiben de manera importante la activación y proliferación de las células Th2, que son la fuerza del impulso subyacente dominante en el asma crónica y pueden detener el desarrollo de un estrechamiento irreversible de las vías aéreas. Así actúa la nueva generación de esteroides inhalados (p. ej., budesonida, furoato de mometasona, propionato de fluticasona) con alto poder antiinflamatorio pero mínimos efectos colaterales debido a su metabolismo hepático, lo que proporciona la primera línea terapéutica para la mayoría de los asmáticos crónicos con el suplemento de β_2-agonistas de acción prolongada y teofilina.

HIPERSENSIBILIDAD CITOTÓXICA DEPENDIENTE DE ANTICUERPOS (TIPO II)

Cuando un antígeno está presente en la superficie de una célula, la combinación con el anticuerpo reanimará la muerte de esa célula y ello promoverá el contacto con los fagocitos, ya sea por la reducción en la carga superficial o por la **adherencia opsónica** de los receptores Fcγ o C3b. La muerte celular también puede ocurrir a través de la activación total del sistema del **complemento** hasta C8 y C9, que produce **daño directo de la membrana** (fig. 16-12). Aunque en el caso de anticuerpos hemolíticos la generación de un único sitio activo del complemento es suficiente para causar la lisis del eritrocito, otras células parecen tener mecanismos de reparación y es probable que para vencer las defensas de la célula necesiten reclutarse varios sitios del complemento.

El funcionamiento de un mecanismo citotóxico bastante distinto deriva del hallazgo de que las células blanco recubiertas con bajas concentraciones de anticuerpos IgG pueden ser destruidas de manera "inespecífica" a través de un mecanismo no fagocítico extracelular, que comprende leucocitos no sensibilizados que se unen al blanco por sus receptores específicos para los dominios Cγ2 y Cγ3 del Fc de la IgG (figs. 16-12 y 16-13). Debe notarse que este mecanismo, denominado **citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo (CCDA)**, puede ser desplegado por células mieloides, fagocíticas y no fagocíticas (polimorfonucleares y monocitos), y por linfocitos granulares grandes con receptores Fc que se han dado en llamar "células K", las cuales casi con certeza son idénticas a las células natural killer (NK) (véase pág. 34). El contacto entre el efector y las células blanco es esencial y la actividad es inhibida por la citocalasina B, que interfiere en el movimiento de la célula, y la IgG agregada, que se une con firmeza a los receptores Fc y bloquea su capacidad de interactuar con el anticuerpo en la superficie de la célula blanco.

La CCDA puede observarse con facilidad como un fenómeno in vitro; como ejemplo, se demostró que las células K humanas son notablemente desagradables para los glóbulos rojos de pollo recubiertos con anticuerpos de conejo, mientras que las esquistosómulas recubiertas con IgG o IgE pueden ser destruidas por los eosinófilos (véase fig. 13-22). Sigue siendo un interrogante no resuelto si la CCDA desempeña un papel positivo in vivo, si bien desde el punto de vista funcional sería esperable que este mecanismo citotóxico extracelular tenga importancia cuando el blanco es demasiado grande para la ingestión por fagocitosis, por ejemplo parásitos de gran tamaño y tumores sólidos. También podría actuar como un sistema de reserva para la destrucción por células T.

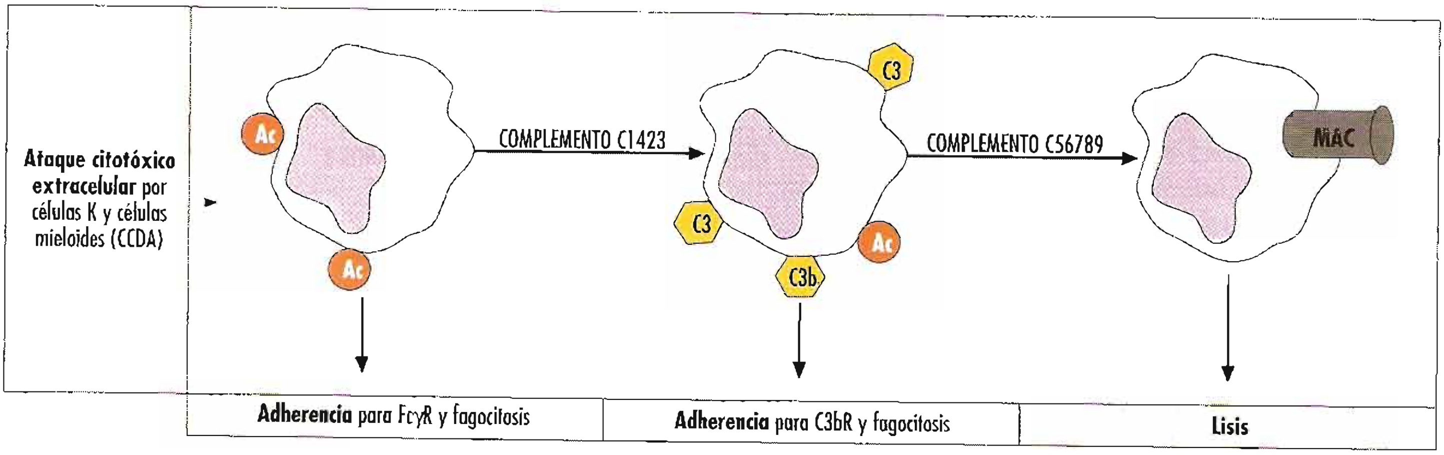

Ataque citotóxico extracelular por células K y células mieloides (CCDA)
Ac
Ac
COMPLEMENTO C1423
C3
C3
Ac
C3b
COMPLEMENTO C56789
MAC
Adherencia para FcγR y fagocitosis
Adherencia para C3bR y fagocitosis
Lisis

Fig. 16-12. Hipersensibilidad citotóxica dependiente de anticuerpos (tipo II). Los anticuerpos dirigidos contra los antígenos de superficie de la célula no sólo causan la muerte celular por lisis dependiente del C sino también por reacciones de adherencia de Fcγ y C3b que conducen a la fagocitosis, o a través de muerte extracelular no fagocítica por ciertas células linfoides y mieloides (citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos). Los anticuerpos citotóxicos IgG dirigidos contra tumores o contra la membrana basal del glomérulo son 10-100 veces más patógenos en los animales deficientes en Fcγ RIIB que en sus controles de tipo salvaje, lo que indica un equilibrio de señales de activación e inhibitorias que controlan la vía efectora dominante en estas respuestas e implican al macrófago como el tipo celular crítico involucrado.

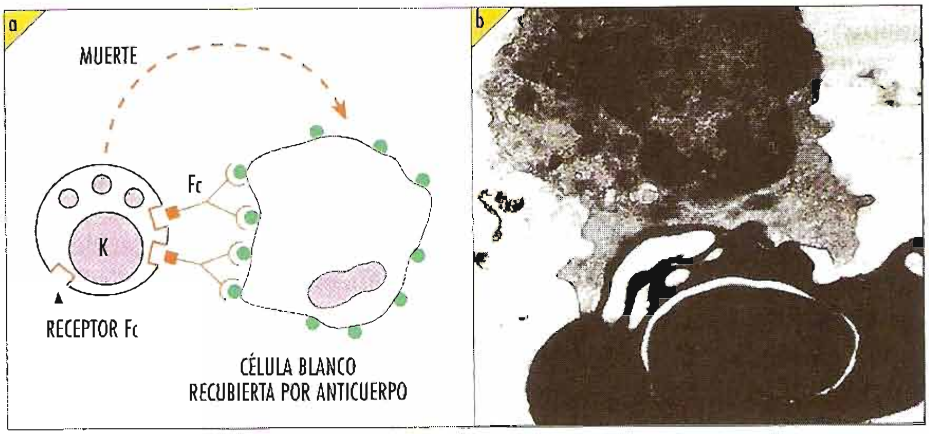


Fig. 16-13. Destrucción de blancos recubiertos por anticuerpos mediante una citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (CCDA). Los receptores FCγ unen al efector a su blanco, que es destruido por un mecanismo extracelular. Los monocitos humanos y los neutrófilos activados por IFNγ destruyen las células tumorales recubiertas por anticuerpos por medio de sus receptores FcγRI; los linfocitos (células NK) destruyen los blancos de hibridomas a través de los receptores FcγRIII. **a)** Diagrama de las células efectoras y blanco. **b)** Micrografía electrónica del ataque de un glóbulo rojo de pollo recubierto por anticuerpo por el linfocito granular grande de ratón, que muestra la aposición próxima de la célula efectora y blanco, y la vacuolización en el citoplasma de esta última. (**b**) Cortesía de P. Penfold.)

Reacciones tipo II entre los miembros de algunas especies (aloinmunes)

Reacciones por transfusiones

De los muchos componentes polimorfos diferentes de la membrana de los glóbulos rojos humanos, los **grupos sanguíneos ABO** forman el sistema dominante. Los grupos antigénicos A y B, derivados de la sustancia H (fig. 16-14) por la acción de glucosiltransferasas, son codificados por los genes *A* y *B*, respectivamente. Los individuos con ambos genes (grupo AB) tienen dos antígenos en sus glóbulos rojos, mientras que los que carecen de estos genes (grupo O) sólo sintetizan la sustancia H. Los anticuerpos contra A o B aparecen de manera espontánea cuando el antígeno está ausente en la superficie del glóbulo rojo; así, una persona del grupo sanguíneo A poseerá anticuerpos anti-B, etc. Estas **isohe-**

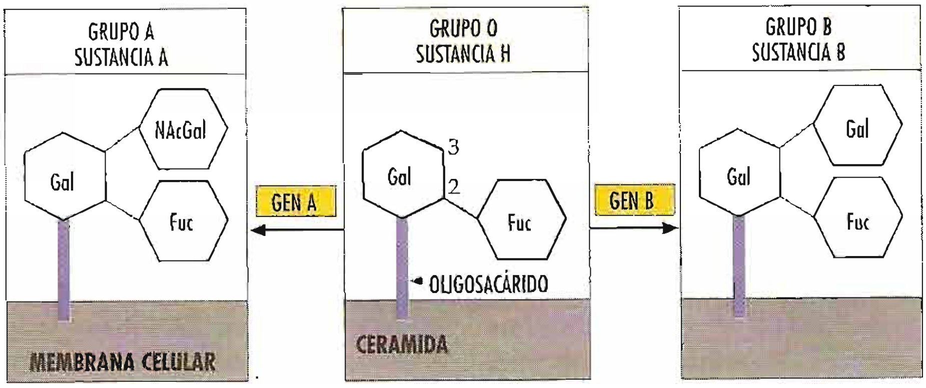


Fig. 16-14. El sistema ABO. Los genes alélicos A y B codifican las enzimas transferasas, las que agregan ya sea el *N*-acetilgalactosamina (NAcGal) o galactosa (Gal), respectivamente, a la sustancia H (Fuc, fucosa). El oligosacárido es anclado a la membrana celular por acoplamiento a una esfingomielina denominada ceramida. El 85% de la población secreta sustancias del grupo sanguíneo en la saliva, donde los oligosacáridos están presentes como conjugados polipeptídicos solubles formados por la acción de un gen secretor (*se*).

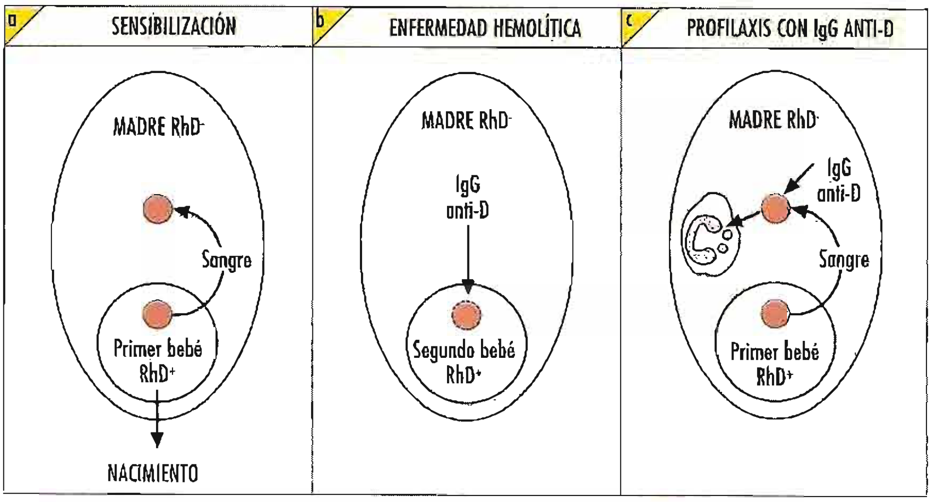


Fig. 16-15. Enfermedad hemolítica del recién nacido debida a incompatibilidad rhesus. a) Glóbulos rojos RhD+ve del primer bebé sensibilizan a la madre RhD-ve. **b)** La IgG anti-D de la madre atraviesa la placenta y recubre los eritrocitos del segundo bebé RhD+ve, lo que produce la enfermedad hemolítica por hipersensibilidad tipo II . **c)** La IgG anti-D, administrada en forma profiláctica con el primer nacimiento, elimina los glóbulos rojos del bebé mediante fagocitosis y previene la sensibilización de la madre.

maglutininas por lo común son IgM y es probable que pertenezcan a la clase de "anticuerpos naturales"; serían estimuladas por el contacto con antígenos de la flora intestinal, que tienen una estructura similar a los hidratos de carbono del grupo sanguíneo, de modo que los anticuerpos formados reaccionan en forma cruzada con el tipo de glóbulo rojo apropiado. Si un individuo es grupo sanguíneo A, sería tolerante a antígenos estrechamente similares a A y sólo formaría anticuerpos que reaccionan en forma cruzada capaces de aglutinar los glóbulos rojos B; de manera similar, un individuo O elaboraría anticuerpos anti-A y anti-B (cuadro 16-2). Cuando se realiza una transfusión, los glóbulos rojos no compatibles estarán recubiertos por las isohemaglutininas y causarán una hemólisis intravascular mediada por complemento.

La refractariedad clínica a las transfusiones de plaquetas con frecuencia se deben a la aloinmunización de HLA, pero este problema puede resolverse mediante la depleción de las plaquetas de la suspensión de leucocitos.

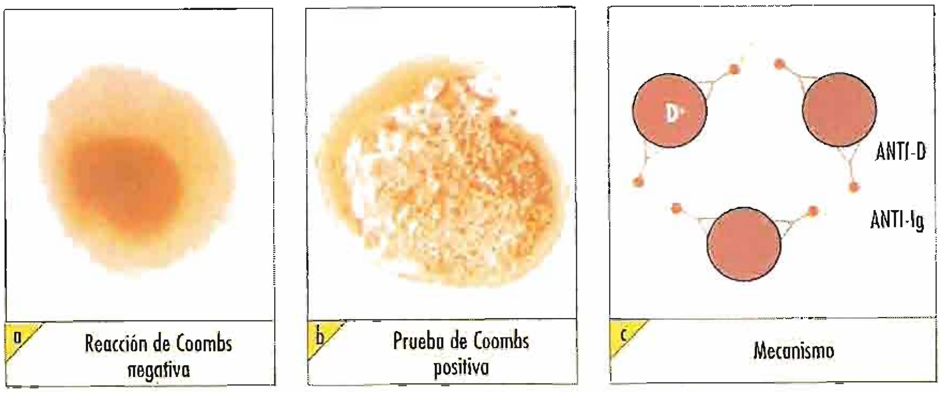
Incompatibilidad rhesus

Los **grupos sanguíneos rhesus (Rh)** forman el otro sistema antigénico principal, entre los cuales el antígeno RhD es el de mayores consecuencias para las reacciones isoinmunes. Una madre con el grupo sanguíneo RhD-ve (es decir, genotipo *dd*) puede sensibilizarse con facilidad por los glóbulos rojos de un bebé que porta antígenos RhD (genotipo *DD* o *Dd*). Esto es más frecuente con el nacimiento del primer niño, cuando la hemorragia placentaria puede liberar gran cantidad de eritrocitos del bebé en la madre. Los anticuerpos formados son sobre todo de la clase IgG y pueden atravesar la placenta en cualquier embarazo subsiguiente. La reacción con el antígeno D en los glóbulos rojos fetales conduce a su destrucción a través de la adherencia opsónica, que produce enfermedad hemolítica en el recién nacido (fig. 16-15).

Estos anticuerpos anti-D no aglutinan glóbulos rojos RhD+ve in vitro ("anticuerpos incompletos"), debido a que la baja densidad de los sitios antigénicos no permite que se formen suficientes puentes de anticuerpos entre los eritrocitos con carga negativa para superar las fuerzas electrostáticas de repulsión. Es posible facilitar la aglutinación de los eritrocitos recubiertos con anti-D mediante el agregado de albúmina o de suero antiinmunoglobulina (reactivo de Coombs; fig. 16-16).

Si una madre posee isohemaglutininas naturales que pueden reaccionar con los eritrocitos fetales que alcanzan su circulación, la sensibilización contra los antígenos D con menos probabilidad se debe a la "desviación" de los glóbulos rojos lejos de las células sensibles al antígeno. Por ejemplo, una madre de grupo O RhD-ve con un bebé grupo A RhD+ve destruiría todos los eritrocitos fetales con su anti-A antes de que ellos pudieran inmunizarse para producir anti-D. En una extensión de este principio, las **madres RhD-ve en la actualidad son tratadas de manera profiláctica** con cantidades pequeñas de IgG ávida anti-D en el momento del nacimiento del primer niño, lo que reduce en gran medida el riesgo de sensibilización. Otro éxito de la inmunología.

Otro ejemplo de enfermedad que es el resultado del pasaje trasplacentario de anticuerpos maternos es la **trombocitopenia aloinmune neonatal**. La caída en las cantidades de plaquetas se mejora en gran medida por altas dosis de inyecciones IV de IgG proveniente de una mezcla de sueros humanos, que



a Reacción de Coombs negativa

b Prueba de Coombs positiva

c Mecanismo

Fig. 16-16. La prueba de Coombs para glóbulos rojos recubiertos con anticuerpos es utilizada para detectar los anticuerpos rhesus detectores y para el diagnóstico de anemia hemolítica autoinmune (véase cuadro 19-2, nota 5, pág. 460). (Las fotografías son cortesía del profesor A. Cooke.)

algunos autores consideran que comprenden redes antiidiotipos (véase pág. 506), aunque la eficacia de los fragmentos Fcγ, anti-RhD y anti FcγIR indica el bloqueo de los receptores Fcγ.

Trasplantes de órganos

Un aloinjerto de larga evolución que ha soportado la primera embestida de la reacción mediada por células puede evocar en el huésped anticuerpos humorales dirigidos contra los antígenos de trasplante de superficie en el injerto. Estos pueden ser directamente citotóxicos o producir adherencia de las células fagocíticas o ataque "inespecífico" por las células K. También pueden conducir a la adherencia plaquetaria cuando se combinan con los antígenos en la superficie del endotelio vascular (fig. 17-6, pág., 405). El rechazo hiperagudo está mediado por anticuerpos preformados en el receptor del injerto.

Reacciones de hipersensibilidad tipo II autoinmunes

En la **anemia hemolítica autoinmune** se producen autoanticuerpos contra los propios glóbulos rojos del paciente. Ellos reaccionan a 37ºC con los epítopos en los antígenos del complejo rhesus distintos de los que incitan las reacciones transfusionales. Los glóbulos rojos recubiertos con estos anticuerpos poseen una vida media acortada, en gran parte debida a su adherencia a las células fagocíticas en el bazo. Mecanismos similares son los responsables de la anemia en pacientes con enfermedad por criohemaglutininas, quienes presentan anticuerpos monoclonales anti-I después de la infección por *Mycoplasma pneumoniae*, y en algunos casos de criohemoglobinuria paroxística asociada con anticuerpos de Donath-Landsteiner activamente líticos específicos del grupo sanguíneo P. Estos anticuerpos pertenecen sobre todo al isotipo IgM y sólo reaccionan bien a temperaturas por debajo de 37ºC. Los autoanticuerpos IgG contra las plaquetas son responsables de la depleción de plaquetas en la **púrpura trombocitopénica idiopática**; si bien las contribuciones relativas de C3b y receptores de Fcγ a su depuración por fagocitosis todavía son un tema de discrepancias, la persistencia de plaquetas opsonizadas cuando los receptores Fcγ están bloqueados (véase antes) o son deficientes (en un modelo murino) apoya con firmeza la hipótesis de que las interacciones Fcγ con su receptor es de extrema importancia.

El suero de pacientes con tiroiditis de Hashimoto contiene anticuerpos que, en presencia de complemento, ejercen una acción citotóxica directa sobre las células tiroideas humanas aisladas en cultivo. En el síndrome de Goodpasture (incluido aquí por conveniencia) hay presencia de anticuerpos contra la membrana basal del glomérulo renal. Las biopsias muestran estos anticuerpos, junto con componentes del complemento, unidos a las membranas basales donde la acción del sistema

Cuadro 16-2. *Grupos sanguíneos ABO y anticuerpos séricos*

GRUPO SANGUÍNEO (FENOTIPO)	GENOTIPO	ANTÍGENO	ANTICUERPOS SÉRICOS
A	*AA, AO*	A	Anti-B
B	*BB, BO*	B	Anti-A
AB	*AB*	A y B	Ninguno
O	*OO*	H	Anti-A Anti-B

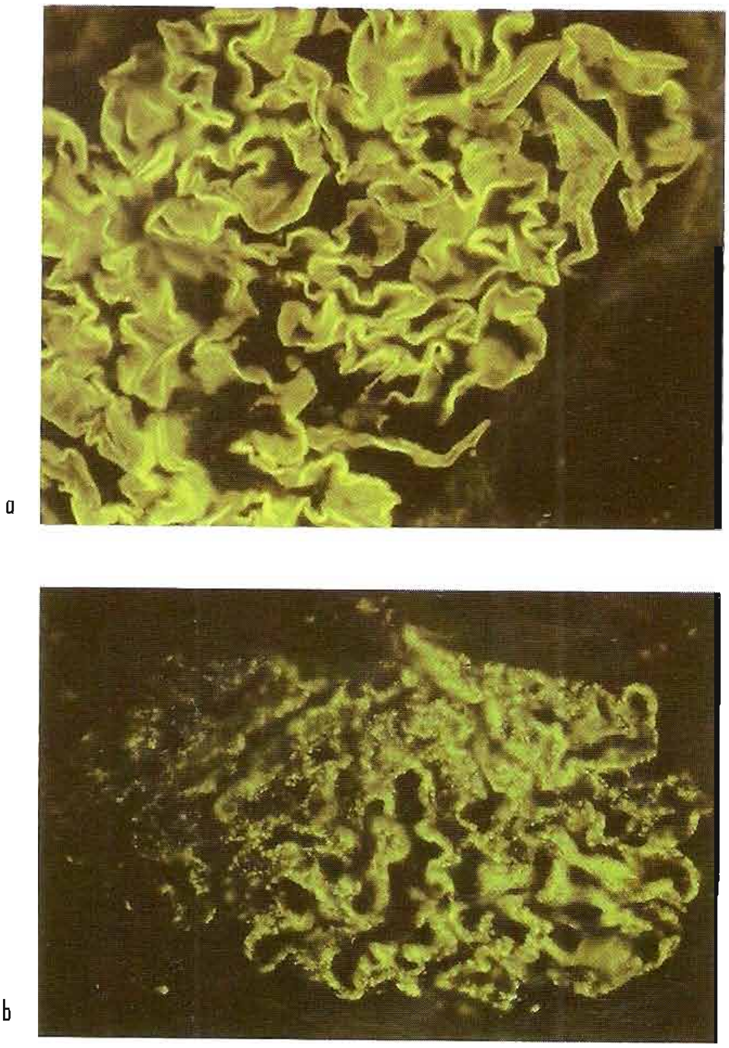


Fig. 16-17. Glomerulonefritis: **a)** debida al depósito lineal de anticuerpos en la membrana basal del glomérulo, visualizado aquí por la tinción en la biopsia del riñón humano con un anti-IgG fluorescente, y **b)** debida al depósito de complejos antígeno-anticuerpo, que puede observarse como masas discretas que recubren la membrana basal del glomérulo luego de la tinción inmunofluorescente con anti-IgG. Patrones similares se obtienen con un anticuerpo fluorescente anti-C3. (Cortesía del doctor S. Thiru.)

de complemento completo conduce a un daño grave (fig. 16-17). Como un ejemplo adicional de hipersensibilidad tipo II también se podría incluir la destrucción de los receptores de acetilcolina de la placa neuromuscular por los autoanticuerpos en la miastenia gravis.

Reacciones tipo II frente a fármacos

Esto es complicado. Los fármacos pueden acoplarse con componentes corporales y, en consecuencia, convertirse en un hapteno o en un antígeno completo que sensibilizará a ciertos individuos (no sabemos cuáles). Si se producen anticuerpos IgE, pueden causar reacciones anafilácticas. En algunas circunstancias, en particular con las pomadas aplicadas de manera tópica, puede inducirse una hipersensibilidad mediada por células. En otros casos, en los que hay acoplamiento con las proteínas séricas, puede darse la posibilidad de que sobrevengan reacciones tipo III mediadas por complejos inmunes. En el presente estamos preocupados por esos casos en que el fármaco parece formar un complejo antigénico con la superficie de un elemento corpuscular de la sangre y evoca la producción de anticuerpos que son citotóxicos para el complejo célula-fármaco. Cuando el fármaco se suspende, la sensibilidad no se evidencia más. Ejemplos de este mecanismo se observaron en la **anemia hemolítica** asociada con la administración continua de clorpromazina o fenacetina, en la **agranulocitosis** asociada con la toma de amidopirina o de quinidina, y la actual situación clásica de **púrpura trombocitopénica** que puede ser producida por sedormida, un sedante de antaño. En este último caso la extracción de suero fresco del paciente lisará las plaquetas en presencia, pero no en ausencia, de la sedormida; la inactivación del complemento por calentamiento del suero a 56ºC durante 30 minutos elimina este efecto.

HIPERSENSIBILIDAD MEDIADA POR COMPLEJOS INMUNES (TIPO III)

En varias circunstancias el organismo puede quedar expuesto a un exceso de antígeno durante un período prolongado: infección persistente por un microorganismo, autoinmunidad a los componentes propios y contacto repetido con agentes medioambientales. La unión de estos antígenos y anticuerpos para formar un complejo dentro del organismo huésped puede dar lugar a reacciones inflamatorias agudas a través de una variedad de mecanismos (fig. 16-18). Para comenzar, los complejos pueden estimular los macrófagos a través de sus receptores Fcγ y generar la liberación de citocinas proinflamatorias IL-1 y TNF, los intermediarios reactivos del oxígeno y óxido nítrico (fig. 16-18). Los complejos que son solubles a menudo no pueden ser digeridos después de la fagocitosis por los macrófagos y, en consecuencia, suelen proporcionar un estímulo de activación persistente. Si el complemento está fijado, se liberarán anafilotoxinas, como productos del clivaje de C3 y C5, las que podrán producir la liberación de los mediadores de los mastocitos con cambios en la permeabilidad vascular. Los factores quimiotácticos también producidos conducirán a una afluencia de leucocitos polimorfonucleares; és-

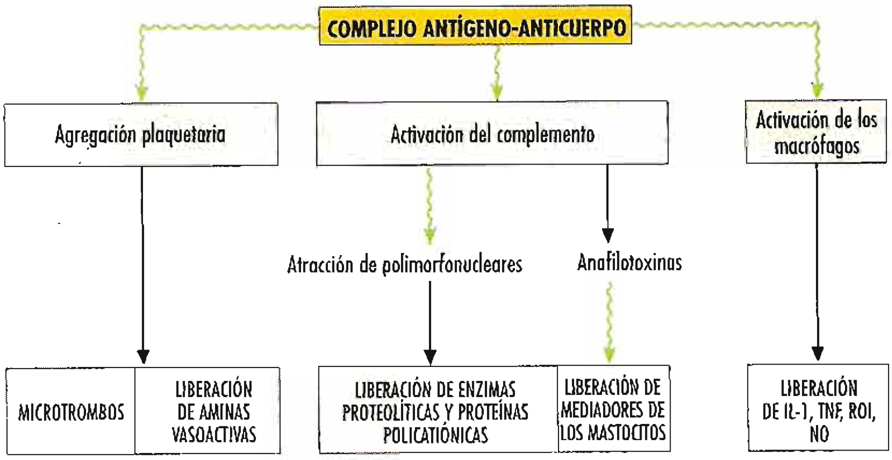

COMPLEJO ANTÍGENO-ANTICUERPO
Agregación plaquetaria
Activación del complemento
Activación de los macrófagos
Atracción de polimorfonucleares
Anafilotoxinas
MICROTROMBOS
LIBERACIÓN DE AMINAS VASOACTIVAS
LIBERACIÓN DE ENZIMAS PROTEOLÍTICAS Y PROTEÍNAS POLICATIÓNICAS
LIBERACIÓN DE MEDIADORES DE LOS MASTOCITOS
LIBERACIÓN DE IL-1, TNF, ROI, NO

Fig. 16-18. Hipersensibilidad mediada por complejos inmunes (tipo III), mecanismos patogénicos subyacentes.

tos comienzan la fagocitosis de los complejos inmunes, lo que a su vez produce la liberación extracelular del contenido de los gránulos de los neutrófilos, en particular cuando el complejo se deposita en una membrana basal y no se puede fagocitar (la denominada "fagocitosis frustrada"). Las enzimas proteolíticas (entre los que se incluyen las proteinasas neutras y las colagenasas), enzimas formadoras de cininas, proteínas policatiónicas e intermediarios reactivos del oxígeno y nitrógeno se liberarán de hecho en los tejidos que sufren un daño local e intensificarán las respuestas inflamatorias. El estrago adicional puede estar mediado por lisis reactiva en la que el C5,6,7 activado se adhiere de manera accidental a la superficie de las células vecinas y de une al C8,9. Los complejos intravasculares pueden agregar plaquetas con dos consecuencias: proporcionan una fuente adicional de aminas vasoactivas y también forman microtrombos, que pueden conducir a una isquemia local. (El lector perspicaz apreciará la necesidad del sistema de inhibidores presente en el organismo.)

El resultado de la formación de complejos inmunes in vivo no sólo depende de las cantidades absolutas de antígeno y anticuerpo, que determinan la intensidad de la reacción, sino también de sus proporciones *relativas*, que determinan la naturaleza de los complejos (véase fig. 6-2, pág. 121), y de su distribución dentro del organismo. Entre el **exceso de anticuerpo** y el **exceso leve de antígeno**, los complejos precipitan con rapidez y tienden a localizarse en el sitio de introducción del antígeno, mientras que con un **exceso moderado o importante del antígeno** se forman complejos solubles.

La unión covalente del C3b impide las interacciones Fc-Fc requeridas para formar los agregados insolubles de gran tamaño y estos complejos pequeños se unen a los receptores CR1 para el complemento en el eritrocito humano y son transportados hacia los macrófagos fijos en el hígado, donde con seguridad se tornan inactivos. Si hay defectos en este sistema, por ejemplo deficiencias en los componentes de la vías clásicas, o quizá si el sistema se encuentra sobrecargado, entonces puede producirse una enfermedad extensa con depósitos, que compromete los riñones, las articulaciones y la piel.

Lesiones inflamatorias debidas a complejos formados localmente

Reacción de Arthus

Maurice Arthus encontró que la inyección intradérmica de antígeno soluble en conejos hiperinmunizados con altos niveles de anticuerpos precipitantes producía una reacción eritematosa y edematosa, que alcanzaba su máxima expresión entre las 3 a 8 horas y por lo común se resolvía luego. La lesión se caracterizaba por una intensa infiltración con neutrófilos (véase fig. 16-19a y b). El antígeno inyectado precipita a menudo con el anticuerpo dentro de la vénula, demasiado rápido para que el sistema clásico del complemento pueda prevenirlo; en consecuencia, el complejo se une al complemento y, por medio de reactivos fluorescentes, puede demostrarse en esta lesión la presencia conjunta de antígeno, inmunoglobulina y componentes del complemento, como se ilustra en la respuesta inflamatoria contra depósitos de complejos inmunes que contienen antígeno de superficie de hepatitis B, en un paciente con periarteritis nudosa (fig. 16-19c). También participa la producción de anafilotoxina, la desgranulación de los mastocitos, la activación de macrófagos, la agregación de plaquetas y la afluencia de neutrófilos. La reacción de Arthus puede atenuarse mediante la depleción de neutrófilos con mostaza nitrogenada o

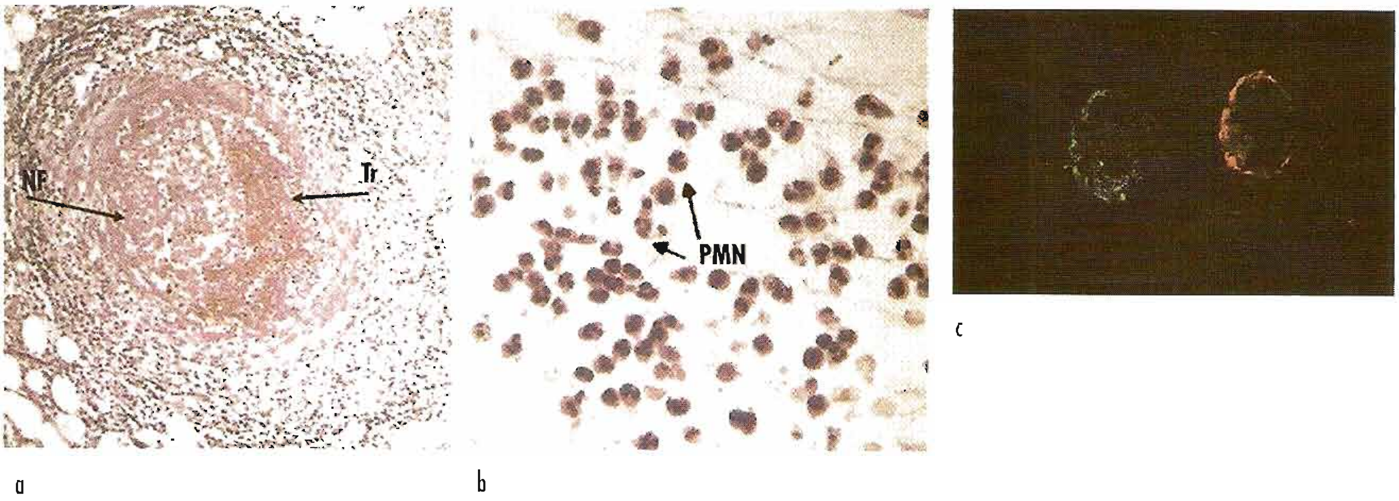


Fig. 16-19. **Histología de la reacción inflamatoria aguda en la poliarteritis nudosa asociada con la formación de complejos inmunes con el antígeno de superficie del virus de hepatitis B (HBs).** **a)** En un vaso sanguíneo se observa la formación de un trombo (Tr) y la necrosis fibrinoide (NF); está rodeado por un infiltrado inflamatorio mixto, en gran parte constituido por polimorfonucleares. **b)** Imagen a mayor aumento de la respuesta inflamatoria aguda en el tejido conjuntivo laxo del paciente con poliarteritis nudosa, con predominio de polimorfonucleares (PMN). **c)** Los estudios por inmunofluorescencia de los complejos inmunes en la arteria renal de un paciente con infección crónica por virus de hepatitis B, con anticuerpos antihepatitis marcados con fluoresceína (izquierda) y anti-IgM marcada con rodamina (derecha). La presencia tanto de antígeno como de anticuerpo en la íntima y media de la pared arterial indica el depósito de complejos en este sitio. Los depósitos de IgG y C3 también son detectables con la misma distribución. (Las fotografías (a) y (b) fueron proporcionadas por cortesía del profesor N. Woolf; (c) fue una gentileza del profesor A. Nowoslowski.)

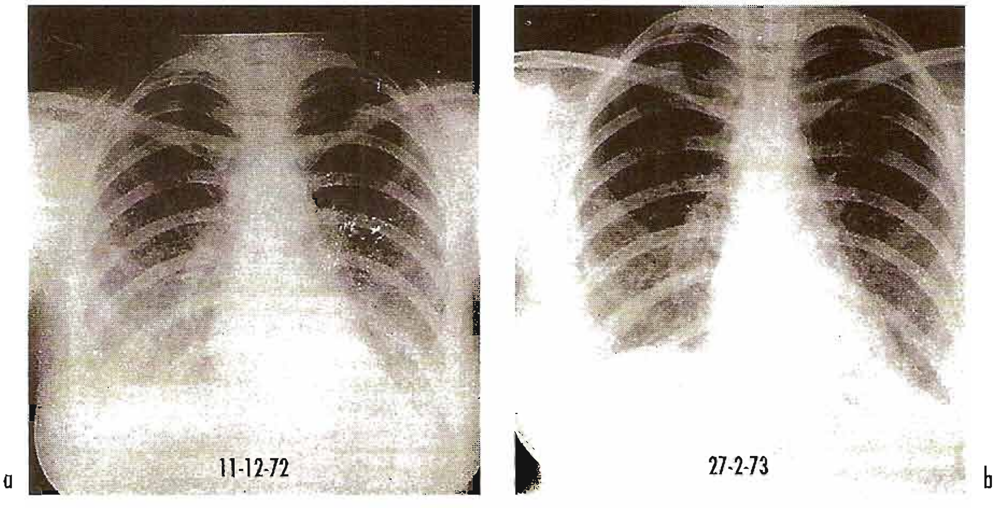
del complemento mediante el empleo de anti-C5a; las formas solubles de las proteínas reguladoras del complemento CD46 (proteína cofactor de membrana) y CD55 (factor de retraso de la aceleración) también son inhibitorios.

Reacciones contra antígenos inhalados

Las **reacciones intrapulmonares tipo Arthus** contra antígenos inhalados exógenos parecen ser responsables de diversos trastornos de hipersensibilidad en los seres humanos. Las dificultades respiratorias severas asociadas con el **pulmón del granjero** se presentan dentro de las 6-8 horas de exposición al polvo del moho del heno. Los pacientes se encuentran sensibilizados a los actinomicetos termófilos que se desarrollan en el heno mohoso y los extractos de estos microorganismos dan reacciones de precipitación con el suero del sujeto y reacciones de Arthus con la inyección intradérmica. La inhalación de esporas bacterianas, presentes en el polvo de heno, introduce el antígeno en los pulmones y se produce una reacción de hipersensibilidad mediada por complejos. Situaciones similares se observan en la enfermedad de los aficionados a las palomas, en quienes el antígeno es tal vez proteínas séricas presentes en el polvo seco de los excrementos; en los cazadores de ratas sensibilizados a las proteínas séricas de ratas excretadas por la orina (fig. 16-20), y en muchos otros casos de **alveolitis alérgica extrínseca**, de nombres extravagantes, que son el resultado de la inhalación incesante de partículas orgánicas, por ejemplo enfermedad del lavador de quesos (*esporas de Penicillium casei*), el pulmón del peletero (proteínas de la piel de zorro) y la enfermedad del descortezador de arces (esporas de *Cryptostroma).* Las evidencias de que una respuesta anafiláctica inmediata de tipo I en algunas oportunidades puede ser importante para la iniciación de una reacción de Arthus provienen de los estudios de pacientes con aspergilosis broncopulmonar alérgica, que presentan altos niveles de anticuerpos IgE y precipitantes IgG contra las especies de *Aspergillus*.

Reacciones contra antígenos internos

Las reacciones de tipo III a menudo son provocadas por la liberación local de antígeno proveniente de microorganismos infecciosos dentro del cuerpo; por ejemplo, los helmintos filariformes viables, como *Wuchereria bancrofti*, son relativamente inocuos, pero el parásito muerto encontrado en los vasos linfáticos inicia una reacción inflamatoria a la que se considera responsable de la obstrucción del flujo



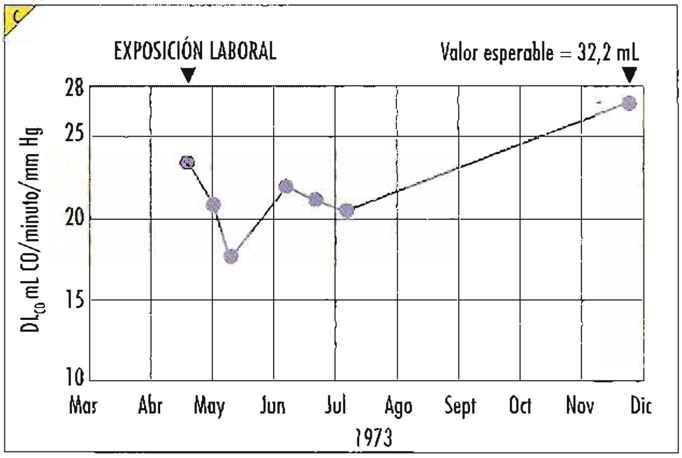


Fig. 16-20. Alveolitis alérgica extrínseca debida a proteínas séricas de rata, en un auxiliar de investigación que manejaba estos roedores (hipersensibilidad tipo III). Las proteínas séricas de ratas desencadenaron reacciones sistémicas y pulmonares típicas, con la inhalación y pruebas cutáneas positivas; las precipitinas contra las proteínas séricas en la orina de rata estaban presentes en el suero del paciente. **a)** Sombreado micronodular bilateral durante los episodios agudos. **b)** Resolución marcada en el curso de 11 días después del cese de la exposición a las ratas. **c)** Disminución transitoria en el intercambio pulmonar de gases determinado mediante el DL_{CO} (transferencia de gas, respiración individual) luego de una exposición durante 3 días a ratas en el laboratorio (flecha). (De Carroll K.B., Pepys J., Longbottom J. L., Hughes D.T.D. & Benson H.G. (1975) *Clinical Allergy* 5,443; las figuras son cortesía del profesor J. Pepys.)

linfático y, si continúa, de la bastante monstruosa elefantiasis. La quimioterapia puede causar una liberación abrupta de antígenos microbianos en individuos con altos niveles de anticuerpos, lo que produce reacciones mediadas por complejos inmunes bastante dramáticas, como **eritema nudoso leproso** en la piel de pacientes con lepra lepromatosa tratados con dapsona (fig. 16-21) y la reacción de Jarisch-Herxheimer en sifilíticos que reciben penicilina.

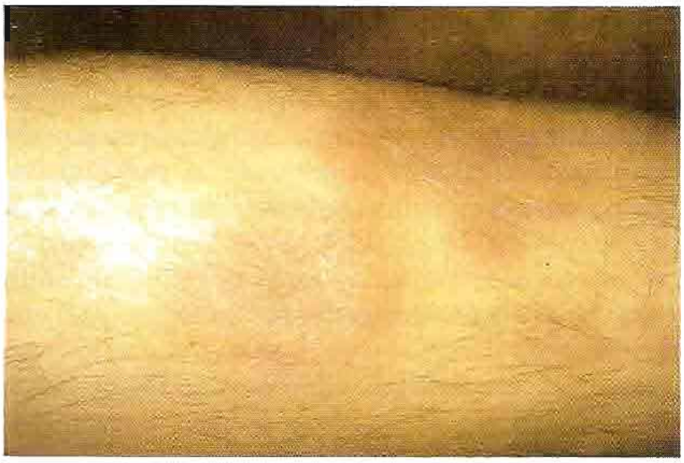


Fig. 16-21. Eritema nudoso leproso, antebrazo. El paciente sufre lepra lepromatosa con un eritema nudoso sobreagregado. Estos nódulos inflamados de modo agudo eran extremadamente dolorosos y el paciente se encontraba pirético. (Fotografía proporcionada por gentileza del doctor G. Levene.)

Una variante interesante de la reacción de Arthus se observa en la artritis reumatoidea, en la cual se forman complejos locales en la articulación debidos a la producción por células plasmáticas sinoviales de IgG anti-IgG autoasociables (véase pág. 491).

También se ha reconocido que los complejos podrían generarse en un sitio local, por un mecanismo bastante diferente que incluye la adherencia inespecífica de un antígeno a las estructuras tisulares, seguida por la unión de anticuerpos solubles; en otras palabras, el antígeno se fija al tejido *antes* y no *después* de la combinación con el anticuerpo. Aunque no está claro hasta qué punto actúa este mecanismo en los pacientes con la enfermedad por complejos inmunes, nos permitimos describir la observación experimental en la que se basa. Después de la inyección con endotoxina bacteriana, los ratones liberan DNA dentro de la circulación. Ésta se une de manera específica al colágeno en la membrana basal de los capilares glomerulares; la endotoxina también activa de manera policlonal las células B que elaboran anti-DNA, que da origen a complejos antígeno-anticuerpo en el riñón.

Enfermedades producidas por complejos circulantes

Glomerulonefritis por complejos inmunes

El depósito de complejos es un asunto dinámico y la enfermedad de larga evolución sólo se observa cuando el antígeno persiste, como en las infecciones crónicas y en las enfermedades autoinmunes. En el nivel experimental Dixon produjo lesiones glomerulares crónicas mediante la administración repetida de proteínas extrañas a conejos. No todos los animales mostraron la lesión; quizá sólo aquellos con capacidad genética para producir anticuerpo de baja afinidad o anticuerpos contra una cantidad restringida de determinantes formaron complejos solubles en el espectro de tamaño adecuado. Los **complejos más pequeños alcanzan el lado epitelial,** pero los **complejos cada vez más grandes son retenidos en el lado endotelial de la membrana basal del glomérulo o sobre ella** (fig. 16-22). Forman como gránulos "abultados", cuyos componentes de antígeno, inmunoglobulina y complemento (C3) se tiñen por inmunofluorescencia (fig. 16-17b) y aparecen como masas amorfas grandes en los estudios con microscopio electrónico (véase fig. 20-5). El proceso inflamatorio daña la membrana basal por compromiso de los complejos con las células efectoras que poseen los receptores Fcγ, como lo revela la ausencia de glomerulonefritis a pesar del depósito de complejos inmunes en los riñones de ratones híbridos F1 Nueva Zelanda (B × W) con deficiencia de FcγR (modelo murino del lupus eritematoso sistémico humano, LES; pág. 457). La proteinuria es el resultado de la pérdida de proteínas séricas a través de la membrana dañada y la albúmina sérica, que cuando es pequeña aparece en la orina incluso con grados menores de lesión glomerular (fig. 16-23, corrida 3).

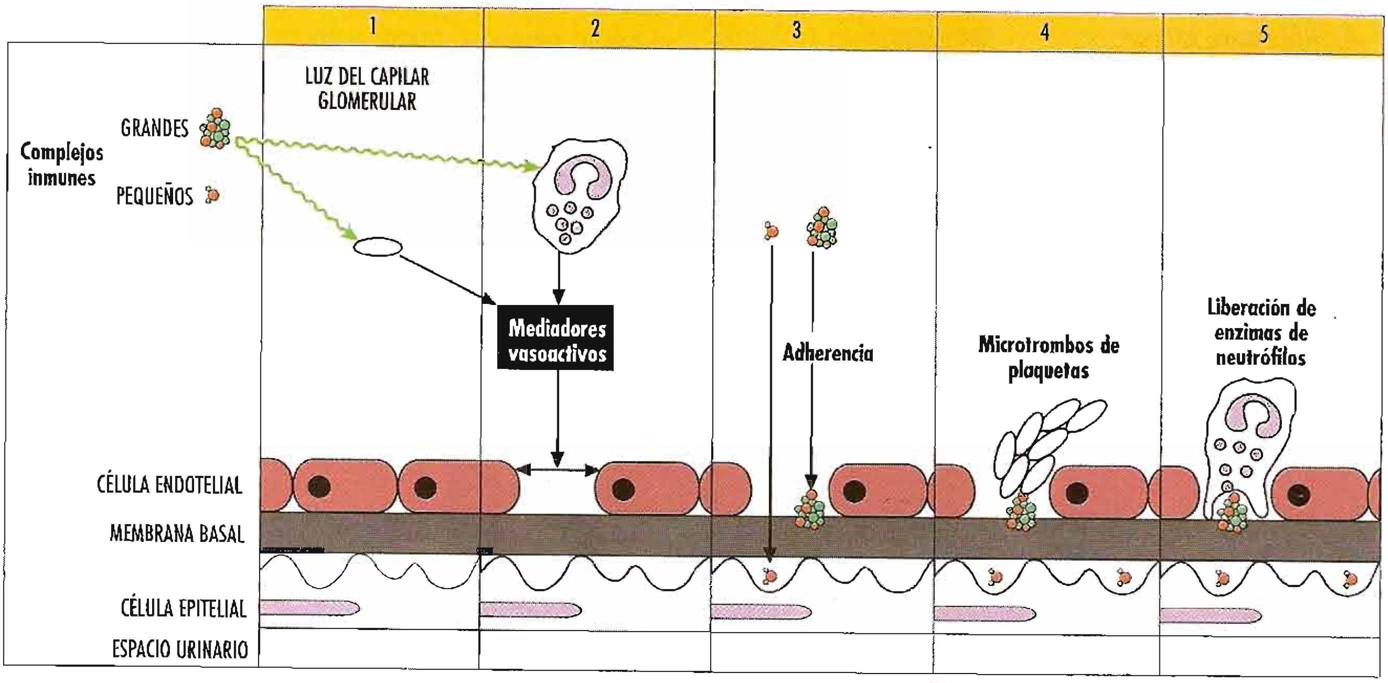


Fig. 16-22. Depósito de complejos inmunes en el glomérulo renal. (1) Los complejos inducen la liberación de mediadores vasoactivos a partir de los basófilos y las plaquetas que causan (2) la separación de las células endoteliales. (3) Adherencia de los complejos más grandes a la membrana basal expuesta, con complejos más pequeños que atraviesan hacia el lado epitelial. (4) Los complejos inducen la agregación plaquetaria. (5) Los neutrófilos atraídos por quimiotaxis liberan el contenido de los gránulos en una "fagocitosis frustrada" para dañar la membrana basal y producen la filtración de proteínas séricas. El depósito de complejos en el capilar del glomerular es favorecido porque es el sitio principal de filtración y posee una alta presión hidrodinámica. El depósito está muy reducido en los animales deplecionados de plaquetas o tratados con antagonistas de aminas vasoactivas.

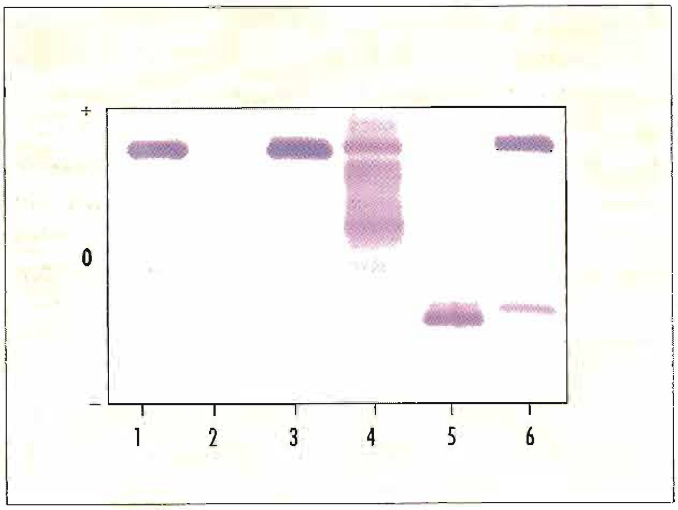


Fig. 16-23. Proteinuria demostrada por electroforesis. Corrida 1: suero normal como referencia. La banda mayor más cerca del cátodo corresponde a la albúmina. Corrida 2: orina normal que muestra trazas de albúmina. Corrida 3: proteinuria glomerular que muestra un componente importante de albúmina. Corrida 4: proteinuria que es resultado del daño tubular, con un patrón electroforético totalmente diferente. Corrida 5: proteinuria de Bence Jones que representa las cadenas livianas de paraproteína excretada (véase pág. 439). Corrida 6: proteinuria de Bence Jones con trazas de paraproteína intacta. Algunas de las muestras fueron concentradas. (Electroforogramas proporcionados amablemente por T. Heys.)

Muchos casos de glomerulonefritis se asocian con complejos circulantes; las biopsias brindan un patrón de tinción fluorescente similar al de la figura 16-17b; que destaca los depósitos DNA/anti-DNA/complemento en el riñón de un paciente con LES (véase pág. 489). Es bien conocida la enfermedad que puede seguir a la infección por ciertas cepas de los denominados "estreptococos nefritógenos" y el síndrome nefrótico de niños nigerianos asociado con el paludismo que produce la fiebre cuartana, los cuales se distribuyeron a complejos con los antígenos del microorganismo infectante. La nefritis por complejos inmunes puede originarse en el curso de infecciones virales crónicas; por ejemplo, ratones infectados por el virus de la coriomeningitis linfocítica desarrollan una glomerulonefritis asociada con complejos circulantes de virus y anticuerpos. Ésta puede representar un buen modelo para muchos casos de glomerulonefritis en los seres humanos.

Depósito de complejos inmunes en otros sitios

El plexo coroideo, un sitio importante de filtración, también es afectado por el depósito de complejos inmunes y esto podría ser el responsable de la frecuencia de los trastornos nerviosos centrales en el LES. Los pacientes con afección neurológica tienden a presentar niveles deprimidos de C4 en el líquido cefalorraquídeo (LCR). En las autopsias se demostró que los pacientes con LES y trastornos neurológicos con altos títulos de anticuerpos anti-DNA tenían depósitos esparcidos de inmunoglobulina y DNA en el plexo coroideo. La panencefalitis esclerosante subaguda se asocia con una alta relación de anticuerpos anti-sarampión en el LCR con respecto al suero; en el tejido nervioso pueden encontrarse depósitos que contienen Ig y Ag del sarampión.

Las erupciones vasculíticas cutáneas también son características del lupus eritematoso sistémico y discoide (fig. 16-24a y b), las biopsias de las lesiones revelan depósitos amorfos de Ig y C3 en la membrana basal de la unión dermoepidérmica (véase fig. 20-6).

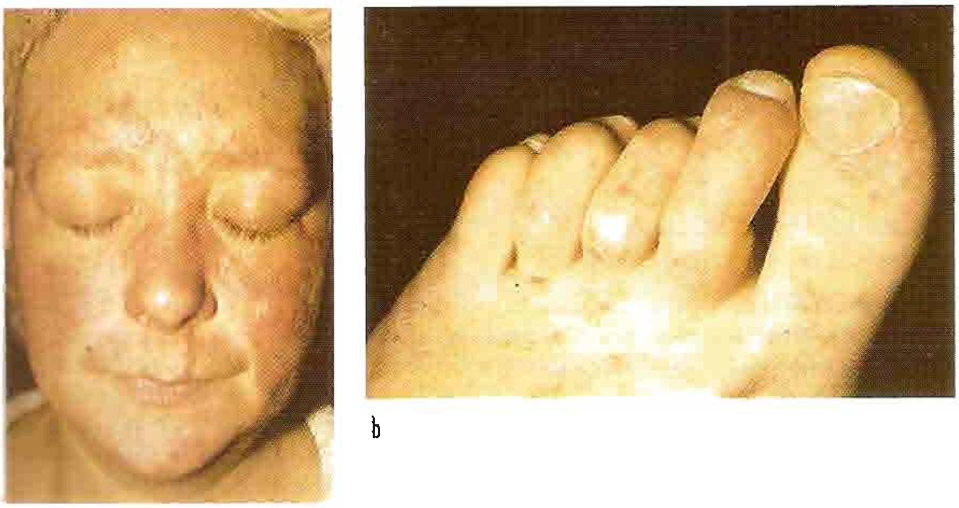


Fig. 16-24. Erupciones cutáneas vasculíticas debidas al depósito de complejos inmunes. a) Aspecto facial en el lupus eritematoso sistémico (LES). Las lesiones de comienzo reciente son simétricas, rojas y edematosas. A menudo son más pronunciadas en las regiones de la cara que reciben más exposición de luz, es decir la parte superior de las mejillas y el puente nasal, y las prominencias de la frente. **b)** Lesiones vasculíticas en el LES. Se observan pequeñas máculas purpúricas.

Otro ejemplo de hipersensibilidad por complejos inmunes es el síndrome de shock hemorrágico encontrado con cierta frecuencia en el sudeste de Asia durante una segunda infección por virus del dengue. Existen cuatro tipos de virus y los anticuerpos, contra un tipo, producidos durante una primera infección, puede que no neutralicen una segunda cepa y sí faciliten su entrada en los monocitos y su replicación dentro de éstos por la adherencia del complejo a los receptores Fc. El incremento en la producción del virus conduce a la formación de complejos inmunes y a una activación intravascular masiva de la vía clásica del complemento. En algunos casos, fármacos como la penicilina se tornan antigénicos después de la unión con proteínas corporales y forman complejos que median las reacciones de hipersensibilidad.

Debe decirse que la persistencia de complejos circulantes no siempre conducen a hipersensibilidad tipo III (p. ej., en muchos pacientes con cáncer y en individuos con reacciones idiotipo-antiidiotipo). Tal vez en estos casos los complejos carecen de la capacidad de iniciar los cambios requeridos para el depósito de los complejos, pero algunos autores sostienen que los complejos detectados en el suero a veces pueden ser artificios liberados a partir de su adherencia in vivo a los receptores CR1 del eritrocito por la acción del factor 1 durante el procesamiento de la sangre.

Tratamiento

Evitar los antígenos exógenos inhalados que inducen las reacciones tipo III es obvio. La eliminación de microorganismos asociados con la enfermedad por complejos inmunes, mediante quimioterapia, puede provocar una reacción adicional debida a la liberación copiosa de antígeno. La supresión de los factores adicionales que se consideran necesarios para el depósito de complejos parece lógica. A menudo se utilizan el cromoglicato de sodio, la heparina y los salicilatos; estos últimos son eficaces estabilizadores plaquetarios, así como potentes agentes antiinflamatorios. Los corticosteroides son inhibidores particularmente poderosos de la inflamación y son inmunosupresores. En muchos casos, en particular en los que participa la autoinmunidad, puede estar justificado el uso de agentes inmunosupresores convencionales. Cuando se sospecha que la hipersensibilidad del tipo III se origina en una respuesta inmune inadecuada, se defiende el enfoque más agresivo de la inmunopotenciación con el objetivo de estimular la avidez, pero éste es un camino que será transitado con lentitud.

HIPERSENSIBILIDAD MEDIADA POR CÉLULAS (RETARDADA; TIPO IV)

Esta forma de hipersensibilidad se encuentra en muchas reacciones alérgicas contra bacterias, virus y hongos, en la dermatitis por contacto que es resultado de la sensibilización a ciertas sustancias químicas simples y en el rechazo al trasplante de tejidos. Quizá el ejemplo más conocido es la **reacción de Mantoux** obtenida por la inyección de tuberculina en la piel de un individuo en quien la infección previa con la micobacteria había inducido un estado de inmunidad mediada por células (IMC). La reacción se caracteriza por eritema e induración (fig. 16-25a), que aparece sólo después de varias horas (de allí el

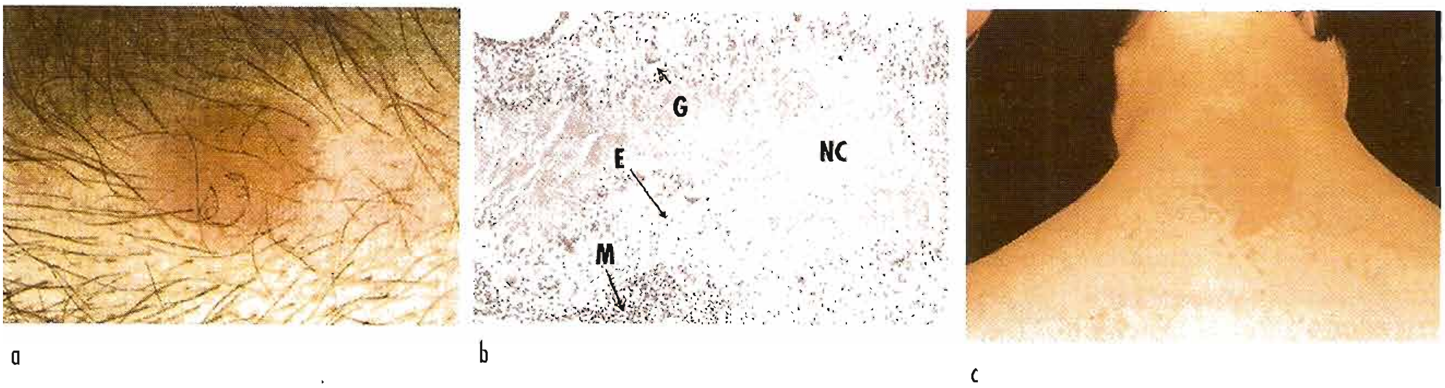


Fig. 16-25. Reacciones de hipersensibilidad mediadas por células (tipo IV). **a)** Prueba de Mantoux que muestra la reacción de hipersensibilidad mediada por células a la tuberculina, caracterizada por la induración y eritema. **b)** La lesión inflamatoria crónica tipo IV en el pulmón tuberculoso muestra necrosis caseosa (NC), células epitelioides (E), células gigantes (G) y células inflamatorias mononucleares (M). **c)** Reacción de hipersensibilidad por contacto tipo IV contra el níquel, causada por el broche de un collar. **a)** Amablemente proporcionada por el profesor J. Brostoff y **b)** por el profesor R. Barnetson; **c)** reproducida de las diapositivas para enseñanza de la British Society for Immunology con autorización de la Sociedad y Departamento de Dermatología, London Hospital.)

término "retardada") y alcanza un máximo a las 24-48 horas, para después desvanecerse. Desde el punto de vista histológico, la fase más temprana de la reacción se observa como un manguito perivascular con células mononucleares, seguido por un exudado más amplio de células mononucleares y polimorfonucleares. Estos últimos migran enseguida fuera de la lesión y dejan detrás un infiltrado con predominio de células mononucleares, constituido por linfocitos y células de la serie monocitos-macrófagos (fig. 16-25b). Esto contrasta con el carácter esencialmente "neutrófilo" de la reacción de Arthus (fig. 16-19b).

Se obtienen reacciones comparables contra proteínas solubles cuando la sensibilización es inducida por la incorporación del antígeno al adyuvante del completo de Freund (véase pág. 216). En algunos, pero no en todos los casos, si los animales se sensibilizan con el antígeno solo o en adyuvante de Freund incompleto (que carece de micobacterias), el estado de hipersensibilidad retardada es de menor duración y la respuesta dérmica más transitoria. Esto se conoce como sensibilidad de "Jones-Mote", si bien hace poco fue denominada **hipersensibilidad cutánea basófila** a causa de la alta proporción de basófilos que infiltra la lesión cutánea.

Base celular de la hipersensibilidad tipo IV

A diferencia de lo que ocurre con las otras formas de hipersensibilidad que hemos comentado, la reactividad retardada no se puede transferir desde un individuo sensibilizado a otro no sensibilizado con anticuerpos séricos; se requieren células linfoides, en particular linfocitos T. En los seres humanos pudo lograrse la transferencia mediante glóbulos blancos viables y, de modo interesante, por un material de bajo peso molecular extraído de ellos (factor de transferencia de Lawrence). Sin embargo, la naturaleza de esta sustancia no se conoce. Los extractos contienen una variedad de factores, que parecen capaces de estimular las células T comprometidas con anterioridad, que media la hipersensibilidad retardada, pero aún sigue siendo un tema muy controvertido si existe también una molécula informativa que confiere una reactividad específica de antígeno.

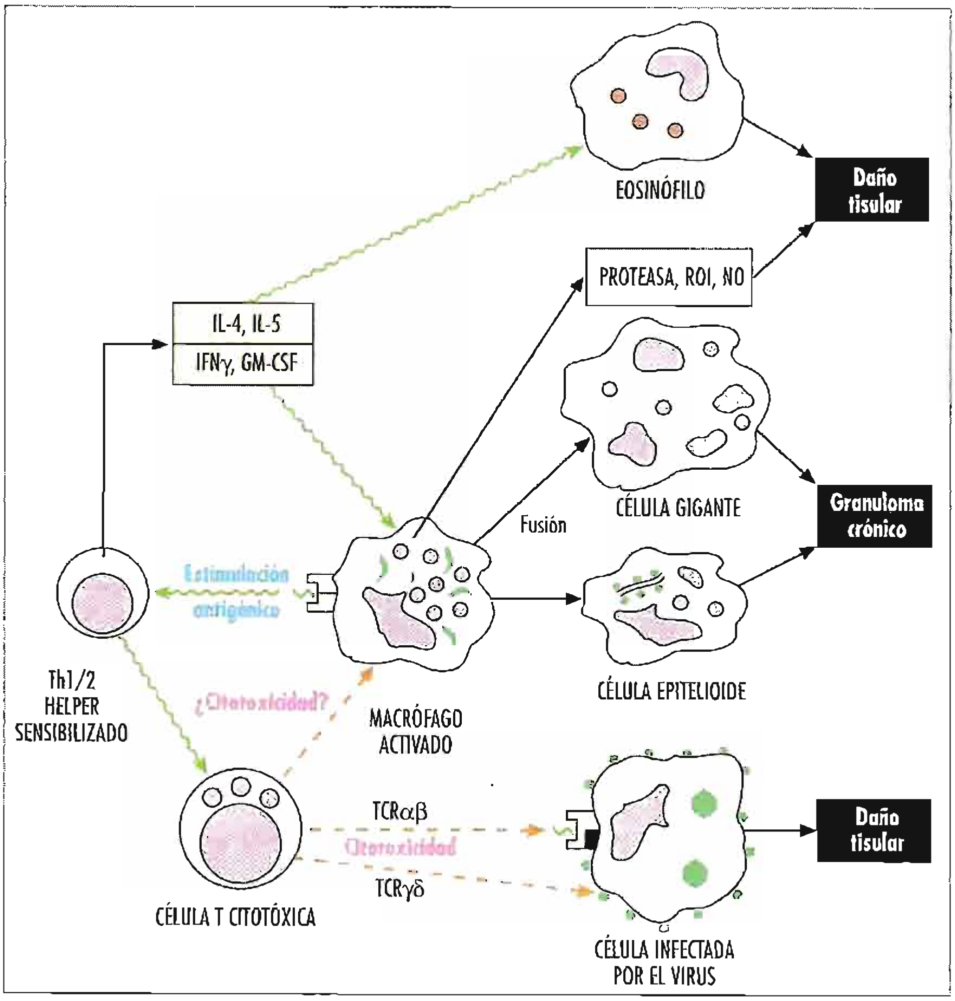

EOSINÓFILO
Daño tisular
PROTEASA, ROI, NO
IL-4, IL-5
IFNγ, GM-CSF
CÉLULA GIGANTE
Granuloma crónico
Fusión
Estimulación antigénica
Th1/2
HELPER
SENSIBILIZADO
¿Citotoxicidad?
MACRÓFAGO
ACTIVADO
CÉLULA EPITELIOIDE
TCRαβ
Citotoxicidad
TCRγδ
Daño tisular
CÉLULA T CITOTÓXICA
CÉLULA INFECTADA
POR EL VIRUS

Fig. 16-26. Base celular de la hipersensibilidad tipo IV.

No se puede poner de relieve demasiado a menudo que la lesión de hipersensibilidad sea el resultado de una interacción excesiva entre el antígeno y los mecanismos inmunes mediados por células *normales* (véase pág. 207). Luego del cebado inicial, las células T de memoria reconocen el antígeno junto con las moléculas clase II del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) sobre una célula presentadora de antígeno, y son estimuladas en la transformación y proliferación de células blásticas. Las células T estimuladas liberan una cantidad de citocinas que actúan como mediadores de la respuesta de hipersensibilidad resultante, en particular mediante la atracción y activación de los macrófagos si ellas pertenecen a la subpoblación de Th1, o de los eosinófilos si son Th2; también colaboran con los precursores de Tc para que se transformen en células killer, las que pueden causar daño a las células blanco infectadas por el virus (fig. 16-26), las células T citotóxicas CD8 TCRαβ, que son activadas por el reconocimiento de complejos clase I del CMH con las proteínas virales procesadas, y las killer TCRγδ, que actúan a través de la unión a las proteínas virales nativas sobre la superficie de las células infectadas.

Daño tisular producido por las reacciones tipo IV

Infecciones

El desarrollo de un estado de hipersensibilidad mediada por células contra los productos bacterianos quizá sea responsable de las lesiones asociadas con la alergia bacteriana, como cavitación, caseificación y toxemia general, observadas en la tuberculosis humana y en las lesiones cutáneas granulomatosas encontradas en pacientes con la forma dimorfa de la lepra. Cuando la batalla entre las bacterias que se encuentran en fase de multiplicación y las defensas del organismo no es resuelta a favor del huésped, el antígeno que persiste provoca una reacción de hipersensibilidad retardada local crónica. La liberación incesante de citocinas a partir de los linfocitos T sensibilizados lleva a la acumulación de grandes cantidades de macrófagos, muchos de los cuales dan lugar a las series de células epitelioides, mientras que otras se fusionan para formar las células gigantes. Los macrófagos que poseen antígeno bacteriano en su superficie pueden transformarse en blancos de las células T killer y ser destruidos. Habrá un daño tisular adicional como resultado de la citotoxicidad indiscriminada por los macrófagos activados por linfocinas (¿y células NK?). Desde el punto de vista morfológico, esta combinación de tipos celulares con linfocitos y fibroblastos en proliferación, asociada con áreas de fibrosis y necrosis, se denomina **granuloma crónico** y representa un intento del organismo huésped de bloquear un sitio de infección persistente (fig. 16-25b y 16-26). Debe notarse que los granulomas también pueden originarse en la persistencia de complejos antígeno-anticuerpo o de materiales inorgánicos incapaces de ser digeridos, como el talco, dentro de los macrófagos, aunque los granulomas no inmunitarios pueden distinguirse por la ausencia de linfocitos.

La enfermedad de **Crohn** es una **enfermedad inflamatoria del intestino (EII)** que afecta con más frecuencia la porción distal del intestino delgado y se caracteriza por inflamación transmural, con granulomas frecuentes pero pocos neutrófilos. El estudio de modelos experimentales sugiere que la EII es una respuesta inmune mediada por CD4 Th1 desregulada contra uno o más antígenos de la flora bacteriana colónica indígena. Los intentos de achacar la responsabilidad al *Mycobacterium paratuberculosis* no han encontrado una aceptación general, si bien el microorganismo puede provocar una enfermedad similar en el ganado. La EII puede ser inducida en los ratones con inmunodeficiencia combinada grave por la transferencia de células T CD4 CD45RB^{hi} (atímico), pero esto puede ser contrarregulado por células CD4, CD25, CD45RB^{lo}. Las células agresoras pertenecen a la población de Th1 dirigidas por IL-12, que producen TNF e IFNγ, altamente tóxicos para los enterocitos, mientras que los reguladores (todavía no caracterizados en su totalidad como células Th3 y reguladoras T 1 [TR1] o ambos) secretan las citocinas supresoras TGFβ e IL-10. Los anticuerpos monoclonales anti-TNF son agentes terapéuticos muy eficaces; el tratamiento probiótico con lactobacilos *Streptococcus salivarius* mantiene la remisión en la colitis severa, es menos draconiano y más accesible para el presupuesto (recuerde las amigables advertencias de los yogures). La EII inducida por noqueo TCRα o por la administración de oxazolona, se presenta como una inflamación relativamente superficial semejante a la **colitis ulcerosa** que está mediada por células Th2 productoras de IL-4; de allí la observación, aún no confirmada, de que la colitis ulcerosa es una "enfermedad Th2".

Las erupciones cutáneas en el sarampión y las lesiones del herpes simple en gran medida pueden atribuirse a las reacciones alérgicas de tipo retardado, con extenso daño para las células infectadas por el virus causado por las células Tc. De la misma manera, las células T citotóxicas específicas pueden te-

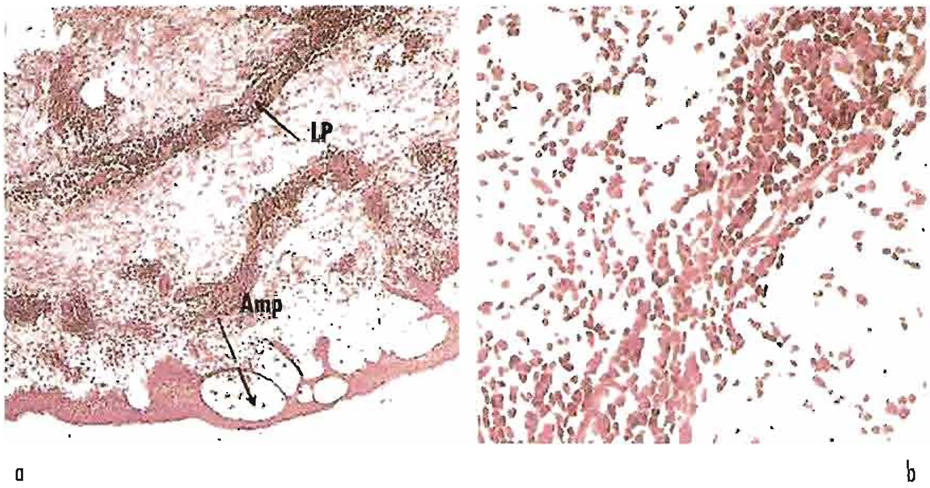


Fig. 16-27. Sensibilidad por contacto. a) Los infiltrados linfocíticos perivasculares (LP) y la formación de ampollas (Amp) caracterizan una reacción de sensibilidad por contacto de la piel. **b)** Imagen a mayor aumento para mostrar la naturaleza del infiltrado linfocítico en una reacción de hipersensibilidad por contacto. (Fotografía proporcionada por gentileza del profesor N. Woolf.)

ner un "día de ejercicios militares" que produce una amplia destrucción de las células hepáticas infectadas por el virus de hepatitis B. La hipersensibilidad mediada por células también se demostró en enfermedades micóticas como candidiasis, dermatomicosis, coccidioidomicosis e histoplasmosis, así como en la enfermedad parasitaria leishmaniasis.

La sarcoidosis es una enfermedad de etiología desconocida que afecta el tejido linfoide y cursa con la formación de granulomas crónicos. Se han obtenido evidencias de las micobacterias atípicas, si bien se observa una depresión en la hipersensibilidad de tipo retardado y los pacientes son anérgicos a la prueba cutánea con tuberculina; de manera curiosa, dan respuestas positivas a la inyección de cortisona junto con el antígeno; se ha sugerido que las células T supresoras sensibles a la cortisona podrían ser responsables de la anergia. Los pacientes desarrollan una reacción granulomatosa unas semanas después de la inyección intradérmica de extracto del bazo de otro paciente con sarcoidosis; es la denominada **reacción de Kweim.**

Dermatitis por contacto

La vía epidérmica de inoculación tiende a favorecer el desarrollo de una respuesta Th1 a través del procesamiento por las células dendríticas de Langerhans, con alto contenido en clase II (véase fig. 2-6f), que migran a los ganglios linfáticos y presentan el antígeno a los linfocitos T. Así, las reacciones del tipo retardado en la piel a menudo son producidas por sustancias extrañas de bajo peso molecular, capaces de unirse a péptidos dentro de la fisura de las moléculas del CMH en la superficie de las células de Langerhans para formar nuevos antígenos. Las reacciones se caracterizan por un infiltrado de células mononucleares que alcanza su máximo a las 12-15 horas, acompañado por edema de la epidermis con formación de microvesículas (fig. 16-27a y b). Sin embargo, en esta historia hay un aspecto más raro, debido tal vez a que el reactivo incitante es un hapteno reactivo. La reacción mononuclear tardía depende por completo de acontecimientos muy tempranos (1-2 horas) mediados por IgM, específica para el hapteno, producida por células B-1, que junto con el complemento activa los vasos sanguíneos locales para permitir el reclutamiento de células T. La hipersensibilidad por contacto puede presentarse en personas que se sensibilizan cuando trabajan con sustancias químicas, como el cloruro de picrilo y los cromatos, o que de manera repetida entran en contacto con la sustancia urushiol de la hiedra venenosa. La *p*-fenilendiamina de ciertas tinturas capilares, la neomicina de las pomadas de aplicación tópica y las sales de níquel formadas a partir del contacto con artículos como los broches de níquel de los collares (fig. 16-25c) pueden provocar reacciones similares. Con la estimulación antigénica los clones de células T específicas para las sales de níquel aisladas de este último grupo produce un perfil de citocinas tipo Th1 (IFNγ, IL-2) (fig. 16-9b).

Hipersensibilidad mediada por Th2

Los ejemplos de hipersensibilidad tipo IV a los que nos hemos referido en esencia están centrados en la vía del macrófago Th1, pero en la actualidad es claro que las respuestas excesivas por las células Th2 pueden dañar los tejidos a través de la activación de eosinófilos (fig. 16-26). Como se mencionó antes, las células T que sintetizan IL-5 son en gran medida las responsables de la influencia sostenida de eosinófilos en el asma y la dermatitis atópica (véase pág. 374). También son responsables de la patología hepática en la esquistosomiasis, la que fue atribuida a una reacción contra las enzimas solubles provenientes de los huevos del parásito que se alojan en los capilares (fig. 16-28).

Otros ejemplos

La hipersensibilidad retardada contribuye de manera significativa con las reacciones prolongadas que son el resultado de las picaduras de insectos. La posible implicación del rechazo de aloinjertos por las células Tc como un mecanismo para el control de células cancerosas se trata en el capítulo 18. En ciertas enfermedades autoinmunes organoespecíficas, como la diabetes tipo I, las reacciones de hipersensibilidad mediadas por células sin duda proporcionan el principal instrumento para la destrucción tisular.

La inflamación intestinal en la enfermedad celíaca, una enteropatía asociada con HLA-DQ2/8, es precipitada por la exposición a la gliadina del trigo de la dieta. El trastorno comprende lo que tal vez es un aumento de la actividad de la transglutaminasa (el blanco de los autoanticuerpos antiendomisio; véase pág. 485) de la mucosa relacionada genéticamente. Esta enzima desamida los residuos glutamina de la gliadina y crea un nuevo epítopo de la célula T, que se une de manera eficaz a DQ2 y es reconocido por las células T CD4 y γδ derivadas del intestino.

La **psoriasis** marcada cursa con una marcada proliferación de queratinocitos de la epidermis y una acelerada diferenciación epidérmica incompleta. Se produce inflamación en la piel, con sacos de microabscesos que contienen neutrófilos y, en todos los casos, células CD4 en la dermis psoriásica y CD8 en la epidermis lesionada. Pudo lograrse revertir la disfunción epidérmica y reducir de forma marcada las células T CD8 intraepidérmicas mediante la administración sistémica de una proteína de fusión de IL-2 y fracciones de la toxina diftérica, que de manera selectiva bloquea el crecimiento de los linfocitos activados pero no el de los queratinocitos. Esto demuestra que la enfermedad se debe sobre todo a un trastorno inmunitario más que de los queratinocitos, los que de modo secundario activan las células T, digamos, TGFβ. El criterio actual es que las células T CD8 atacarían la piel, lo que activaría los programas de reparación de la lesión asociados con la curación de las heridas, mientras que las citocinas ejercerían una acción directa como mitógenos de los queratinocitos epidérmicos.

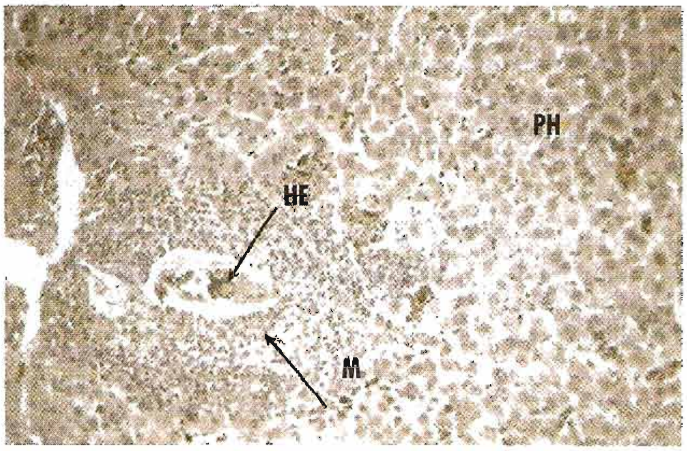


Fig. 16-28. Respuesta mediada por Th2 contra el huevo de esquistosoma. Lesión de hipersensibilidad tipo Th2 de células inflamatorias (M) alrededor de un huevo de esquistosoma (HE) dentro del parénquima hepático (PH). (Fotografía proporcionada por cortesía del profesor M. Doenhoff.)

HIPERSENSIBILIDAD ESTIMULATORIA (TIPO V)

Muchas células reciben señales a través de agentes como las hormonas, por medio de receptores de la superficie a los cuales el agente externo se une de manera específica, tal vez a través de complementariedad estructural. Por ejemplo, cuando la hormona estimulante del tiroides (TSH) de origen hipofisario se une a los receptores celulares tiroideos, se activa la adenilciclasa y el "segundo mensajero" cAMP generado actúa para estimular la célula tiroidea. Los **anticuerpos estimulantes del tiroides** presentes en el suero de pacientes tirotóxicos (véase pág. 484) están dirigidos contra un sitio en el receptor TSH que produce los cambios requeridos para la activación de la adenilciclasa. De manera intrigante, aunque no tanto en la actualidad, hay indicios de que los pacientes con úlceras duodenales resistentes a la cimetidina podrían tener anticuerpos estimuladores dirigidos contra los receptores de histamina.

Pueden citarse otros ejemplos experimentales de estimulación por anticuerpos contra antígenos de la superficie celular: la activación de linfocitos B y T por los fragmentos $F(ab')_2$ dirigidos contra los receptores específicos para el antígeno; la producción de división en las células tiroideas, por autoanticuerpos "proliferativos"; la inducción de pinocitosis por suero antimacrófago, y el efecto mitógeno de los anticuerpos contra los huevos del erizo de mar. Es digno de destacar que si bien los anticuerpos antienzimas dirigidos contra los determinantes cercanos del sitio activo pueden ejercer un efecto bloqueador, la combinación con los determinantes más distantes a veces puede provocar cambios alostéricos conformacionales que se asocian con un aumento considerable de la actividad enzimática, como se describió con ciertas variantes de penicilinasa y β-galactosidasa.

REACCIONES DE HIPERSENSIBILIDAD "INNATA"

Muchas infecciones provocan un "**síndrome de shock tóxico**", caracterizado por hipotensión, hipoxia, oliguria y anormalidades microvasculares, mediado por elementos del sistema inmune innato independientemente de la acción de las respuestas inmunes adquiridas.

La septicemia asociada con las **bacterias gramnegativas** se produce por la liberación excesiva de TNF, IL-1 e IL-6 a través de la estimulación de macrófagos y células endoteliales por la endotoxina lipopolisacárido (LPS) (véase fig. 1-6). Por lo común esto reforzaría las defensas del huésped, al colaborar en el reclutamiento de fagocitos al promover la adherencia al endotelio, programar los neutrófilos para la liberación posterior de los intermediarios reactivos del oxígeno, inducir las respuestas febriles (las respuestas inmunes mejoran de manera continua de 33 ºC a 44ºC), y así sucesivamente. Lamentablemente, el exceso de LPS circulante y las citocinas liberadas por él conducen a la fisiopatología no deseada en sitios distantes, como el **síndrome de distrés respiratorio del adulto**, ocasionado por una invasión abrumadora del pulmón por neutrófilos. Existe una alta concentración patológica de óxido nítrico pero, además, el LPS puede activar la vía alternativa del complemento y esto se relaciona con su capacidad de inducir la liberación de tromboxano A_2 y prostaglandina a partir de las plaquetas, que conducen a la **coagulación intravascular diseminada**.

Mientras el principal culpable de la sepsis por gramnegativos es el LPS, los **microorganismos grampositivos** poseen una variedad de componentes que actúan en los elementos de defensa del huésped para iniciar el shock séptico. Así, la adherencia de *Staphylococcus aureus* a los macrófagos induce la síntesis de TNFα y la agregación plaquetaria, mediada por peptidoglucano por el mismo microorganismo, conduce a la coagulación intravascular diseminada. Las enterotoxinas estafilocócicas y estreptocócicas inducen el síndrome de shock tóxico por mecanismos bastante diferentes. Al actuar como **superantígenos** (véase pág. 114), reaccionan en forma directa con familias de receptores de las células T particulares y dan origen a la liberación masiva de citocinas, entre las que se incluyen TNF y factor inhibidor de la migración de macrófagos (MIF), que se detecta en altas concentraciones en el plasma de pacientes con el shock séptico. Diversos tratamientos se encuentran en plano de investigación. La pentoxifilina bloquea la producción de TNF por los macrófagos. Los modelos experimentales del shock séptico pueden bloquearse con anti-MIF y con un péptido derivado de la secuencia natural 150-161 de la enterotoxina B estafilocócica, que es parte de un dominio crucial para la activación de la célula T.

Las mutaciones en la línea germinal en los dominios extracelulares del receptor TNF de 55 kDa, TNFRI, define una familia de síndromes autoinflamatorios heredados como rasgo dominante entre los que se incluyen episodios de fiebre periódica imprevisibles.

Ya se llamó la atención del lector acerca de la susceptibilidad no habitual de los eritrocitos a la lisis en la **hemoglobinuria paroxística nocturna,** que es el resultado de la deficiencia en las proteínas de control del complemento en la superficie del glóbulo rojo (véase pág. 349). El consumo indebido de C3 se asocia con la glomerulonefritis mesangiocapilar y la lipodistrofia, en pacientes con el denominado **factor nefrítico C3**, que parece ser un autoanticuerpo IgG capaz de activar la vía alternativa mediante la combinación con la convertasa estabilizante C3bBb.

En esta sección debemos incluir la **fibrosis pulmonar idiopática**. Es un trastorno crónico fatal caracterizado por la fibrosis difusa de las paredes alveolares en la que los macrófago locales tienen un papel central. Con la activación producen una señal de proliferación competente de la fase G1 inicial, como el factor de crecimiento derivado de las plaquetas y fibronectina, y luego una señal de progresión de la proliferación de G1 tardía, como el factor de crecimiento 1 tipo insulina. Como resultado, los fibroblastos se multiplican y se quedan embebidos en una matriz de colágeno responsables del detrimento respiratorio del huésped.

Las características distintivas neuropatológicas de la enfermedad de Alzheimer son las placas extracelulares y los ovillos neurofibrilares intracelulares. Uno de los constituyentes de las placas seniles es el β-amiloide, compuesto por fragmentos hidrófobos de la proteína precursora del amiloide (APP). De manera habitual, la APP es clivada por una α-secretasa en productos solubles que no pueden formar el β-amiloide, pero los miembros de una familia en los que se diagnosticó enfermedad de Alzheimer con una mutación patogénica en los residuos 670-671 de APP, presentaban niveles muy bajos de este producto del clivaje cuando se los comparaba con los sujetos no portadores. Esto podría representar también un nuevo y prometedor marcador diagnóstico.

RESUMEN

- La estimulación excesiva de los mecanismos efectores normales del sistema inmune puede conducir al daño tisular y hablamos de reacciones de hipersensibilidad, entre las que pueden distinguirse varios tipos.

Hipersensibilidad anafiláctica (tipo 1)

- La anafilaxia implica la contracción del músculo liso y la dilatación de los capilares.
- Esto depende de la reacción del antígeno con el anticuerpo IgE específico unido a través de su Fc al receptor de alta afinidad FcεRI ubicado en el mastocito.
- Los enlaces cruzados y la formación de cúmulos de los receptores de IgE activan la proteína tirosincinasa Lyn, recluta otras cinasas y conduce a la liberación de mediadores de los gránulos, que incluyen histamina, leucotrienos y factor activador de plaquetas, más factores quimiotácticos de eosinófilos y neutrófilos, y las citocinas IL-3, IL- 4, IL-5 y GM-CSF.

Alergia atópica

- La atopia proviene de una respuesta excesiva de IgE contra antígenos extrínsecos (alérgenos) que conduce a reacciones anafilácticas locales en los sitios de contacto con el alérgeno.
- La fiebre de heno y el asma extrínseca son los trastornos alérgicos atópicos más comunes como resultado de la exposición contra alérgenos inhalados. La dermatitis atópica también es sumamente común.
- Mientras la reacción inmediata contra el alérgeno extrínseco (máximo a los 30 minutos) se debe a la activación de mastocitos, una reacción de fase tardía alcanza el máximo a las 5 horas, con una intensa infiltración de eosinófilos. Se inicia por la activación de macrófagos alveolares y en otros sitios a través de la IgE unida a la superficie; el TNF y la IL-1β secretada ahora actúan en las células epiteliales y fibroblastos para liberar poderosos factores quimiotácticos de eosinófilos como RANTES y eotaxina.
- En el asma, la prolongación seria de la respuesta al alérgeno es producida por células T del tipo Th2. Ella sostiene el reclutamiento de eosinófilos perjudiciales para el tejido a través de la liberación de IL-5. La mezcla de poderosos broncoconstrictores, el efecto dañino de la proteína básica principal de eosinófilos y de los intermediarios reactivos del oxígeno, así como la hipersecreción de moco estimulada por IL-13 e IL-4, todos contribuyen al daño drástico de la vía aérea característico del asma crónica.
- Muchas alergias a los alimentos pertenecen al tipo 1 de hipersensibilidad.
- Factores genéticos de importancia son la propensión a elaborar el isotipo IgE y a genes que involucran la IL-4/9/13,GM-CSF y cúmulo CD14.
- La exposición a ciertos alimentos y a infecciones estimulantes de Th1 puede influir con firmeza el "inmunoestado" que establece la tendencia a las respuestas, ya sea Th1 o Th2; este último aumenta el riesgo de alergia a través de la estimulación de la síntesis de IgE y el reclutamiento de eosinófilos.
- El antígeno agresor se identifica por las pruebas de punción intradérmica, que se manifiestan por reacciones inmediatas de roncha y eritema, mediante pruebas de provocación y por RAST.
- Siempre que sea posible, el mejor tratamiento es evitar el alérgeno.
- Un anticuerpo monoclonal dirigido contra el dominio de unión al receptor de IgE reduce de manera espectacular los niveles y la síntesis de IgE y disminuye la capacidad de respuesta de los mastocitos. El tratamiento sintomático incluye el uso de β_2-agonistas de acción prolongada y antagonistas de leucotrienos desarrollados en época reciente. Las cromonas, como el cromoglicato de sodio, bloquean la actividad de los canales del cloro, que por eso estabilizan los mastocitos e inhiben la broncoconstricción. La teofilina, el único fármaco más indicado para el asma, es un inhibidor de la fosfodiesterasa que eleva el calcio intracelular; esto produce broncodilatación e inhibición de los efectos de la IL-5 en los eosinófilos. El asma crónica está dominada por las células Th2 activadas y se trata con esteroides tópicos, que despliegan una gama amplia de acciones antiinflamatorias que incluye la capacidad de bloquear la producción de mediadores por macrófagos o células Th2 estimuladas. Cuando sea necesario deben complementarse con β_2-agonistas de acción prolongada y teofilina.
- Los ciclos de inyección del antígeno pueden desensibilizar por la formación de anticuerpos IgG bloqueadores o tal vez reguladores, o a tra-

vés de la regulación de células T. Para modular el estado atópico pueden manipularse los péptidos de los epítopos de células T.

Hipersensibilidad citotóxica dependiente de anticuerpos (tipo II)

- Esto involucra la muerte de células que poseen el anticuerpo adherido a un antígeno de la superficie.
- Las células pueden ser captadas por las células fagocíticas, a las que se adhieren a través de su cubierta de IgG o C3b, o son lisadas por la acción del sistema de complemento completo.
- Las células que poseen IgG también pueden ser destruidas por polimorfonucleares y macrófagos, o por las células K, a través de un mecanismo extracelular (citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos).
- Como ejemplos citamos reacciones por transfusiones, enfermedad hemolítica del recién nacido a través de la incompatibilidad rhesus, destrucción del injerto mediada por anticuerpos, reacciones autoinmunes dirigidas contra los elementos formes de la sangre y membrana basal del glomérulo, e hipersensibilidad como resultado de la cubierta de eritrocitos o plaquetas por un fármaco.

Hipersensibilidad mediada por complejos (tipo III)

- Se produce a partir de los efectos de los complejos antígeno-anticuerpo, a través de i) la activación del complemento y la atracción de leucocitos polimorfonucleares que liberan mediadores que dañan los tejidos cuando se ponen en contacto con el complejo, ii) estimulación de macrófagos para liberar citocinas proinflamatorias y iii) agregación plaquetaria para causar microtrombos y liberación de aminas vasoactivas.
- Cuando los niveles de anticuerpos circulantes son altos, el antígeno precipita cerca del sitio de entrada en el organismo huésped. La reacción en la piel se caracteriza por la infiltración de polimorfonucleares, edema y eritema, que alcanza un máximo a las 3-8 horas (reacción de Arthus).
- Los ejemplos son el pulmón de granjero, la enfermedad de los aficionados a las palomas y

Cuadro 16-3. *Comparación de tipos de hipersensibilidad que involucra respuestas adquiridas*

		Anafiláctica (I)	**Citotóxica** (II)	**Mediada por complejos** (III)	**Mediada por células** (IV)	**Estimulatoria** (V)
Anticuerpo que media la reacción		Ac homocitotrópico Unión a mastocitos	Ac humoral ± FC*	Ac humoral ± FC*	Receptor en los linfocitos T	Ac humoral No-FC*
Antígeno		Por lo común exógeno (p. ej., polen de césped)	Superficie celular	Extracelular	Asociado con CMH en el macrófago o en la célula blanco	Superficie celular
Respuesta al antígeno intradérmico:	Reacción máxima	30 minutos (reacción tardía +)	–	3-8 h	24-48 h	–
	Aspecto	Roncha y eritema	–	Eritema y edema	Eritema e induración	–
	Histología	Desgranulación del mastocito; edema; (la reacción tardía celular que incluye eosinófilos)	–	Reacción inflamatoria aguda; predominio de polimorfonucleares	Inflamación perivascular: los polimorfonucleares migran y dejan un predominio de células mononucleares	–
Transferencia de la sensibilidad a un sujeto normal		←	Anticuerpos séricos	→	Células linfoides Factor de transferencia	Anticuerpos séricos
Ejemplos		Alergia atópica, p. ej., hay fiebre del heno	Enfermedad hemolítica del recién nacido (Rh)	Glomerulonefritis por complejos; Pulmón de granjero	Reacción de Mantoux para la TB; Reacción granulomatosa contra TB; Sensibilidad por contacto	Tirotoxicosis

*FC, fijación del complemento.

la aspergilosis pulmonar, en los cuales los antígenos inhalados provocan altos niveles de anticuerpos, reacciones contra un incremento abrupto causado por muerte de las células bacterianas durante la quimioterapia para la lepra o las sífilis, poliarteritis nudosa relacionada con complejos con el virus de la hepatitis B y un elemento de la lesión sinovial en la artritis reumatoidea.

- Con un *exceso de antígeno* relativo se forman complejos solubles, que son eliminados mediante la unión a los receptores CR1C3b en los glóbulos rojos. Si este sistema está sobrecargado o si son deficientes los componentes de la vía clásica del complemento, los complejos circulan en su estado libre y se depositan bajo circunstancias de aumento de la permeabilidad vascular en ciertos sitios preferidos: glomérulo renal, articulaciones y plexo coroide.
- Los ejemplos son: glomerulonefritis asociada con lupus eritematoso sistémico (LES) o infecciones por estreptococo, paludismo y otros parásitos, trastornos neurológicos en el LES y panencefalitis esclerosante subaguda, y shock hemorrágico en la infección viral por dengue.

Mediada por células o hipersensibilidad de tipo retardado (tipo IV)

- Se basa en la interacción del antígeno con las células T sensibilizadas con anterioridad y representa el daño tisular, que es el resultado de las reacciones de inmunidad mediada por células inapropiadas.
- Se produce la liberación de diversas citocinas solubles, como IFNγ, que activan los macrófagos y son las responsables de los acontecimientos que tienen lugar en una respuesta de hipersensibilidad retardada típica, como la reacción de Mantoux a la tuberculina, es decir, la aparición tardía de una reacción indurada y eritematosa que alcanza un máximo a las 24-48 horas y en la histología se caracteriza por la presencia de un infiltrado con fagocitos mononucleares y linfocitos.
- La provocación continua de la hipersensibilidad retardada, por la persistencia del antígeno, conduce a la formación de granulomas crónicos.
- Las células tipo Th2 productoras de IL-4 e IL-5 también pueden producir daño tisular a través de su capacidad de reclutar eosinófilos.
- Las células T CD8 son activadas por los antígenos de la clase I del complejo mayor de histocompatibilidad, con lo que se convierten en citotóxicas directas para las células blanco que portan el antígeno apropiado.
- Los ejemplos son: daño tisular en infecciones bacterianas (tuberculosis, lepra), virales (sarampión, herpes), micóticas (candidiasis, histoplasmosis) y parasitarias (leishmaniasis, esquistosomiasis), dermatitis por contacto causadas por exposiciones a cromatos y hiedra venenosa, picaduras de insectos y psoriasis. La enfermedad inflamatoria intestinal puede ser el resultado de reacciones tipo Th1 contra bacterias intestinales o ciertos alimentos como la gliadina del trigo.

Hipersensibilidad estimulatoria (tipo V)

- El anticuerpo reacciona con un componente de superficie clave como un receptor de hormona y "cambia sobre" la célula.
- Un ejemplo es la hiperreactividad tiroidea en la enfermedad de Graves, debida a un autoanticuerpo estimulante de la glándula tiroides.

En el cuadro 16-3 se comparan las características de estos cinco tipos de hipersensibilidad adquirida.

Reacciones de hipersensibilidad "innata"

- Muchas infecciones provocan un "síndrome de shock tóxico" que involucra la liberación excesiva de TNF, IL-1 e IL-6 y activación intravascular del complemento.
- El shock séptico asociado con las bacterias gramnegativas se debe sobre todo a la endotoxina lipopolisacárido (LPS).
- Los microorganismos grampositivos causan la liberación de TNF y factor inhibitorio de la migración de macrófagos (MIF) a través de la acción directa de los macrófagos y la estimulación de familias de células T seleccionadas por los superantígenos enterotoxina. La agregación plaquetaria por *S. aureus* induce coagulación intravascular diseminada.
- La aberración de los mecanismos innatos puede ser una causa subyacente en la fibrosis pulmonar idiopática y puede contribuir a las placas de β-amiloide en la enfermedad de Alzheimer.

Véanse preguntas de opciones múltiples en el sitio web correspondiente (www.roitt.com).

CAPÍTULO 17

Trasplante

www.el12cirujano.blogspot.com/

Introducción, 399
Control genético de los antígenos del trasplante, 399
Algunas otras consecuencias de la incompatibilidad del CMH, 402
  Las diferencias de CMH clase II producen una reacción linfocitaria mixta (RLM), 402
  Reacción injerto versus huésped (i.v.h.), 402
Mecanismos de rechazo del injerto, 403
  Los linfocitos pueden mediar el rechazo, 403
  La respuesta contra el aloinjerto es poderosa, 403
  Papel de los anticuerpos humorales, 404
Prevención de rechazo del injerto, 405
  Compatibilización de tipos de tejido entre el donante y el receptor del injerto, 405
  Agentes productores de inmunosupresión general, 407
  Estrategias para la depresión específica de antígeno de la reactividad contra el aloinjerto, 412
El xenoinjerto ¿es una propuesta práctica?, 413
Ingeniería de tejidos, 413
Experiencia clínica en trasplantes, 415
  Sitios privilegiados, 415
  Trasplantes de riñón, 415
  Trasplantes de corazón, 415
  Trasplantes de hígado, 416
  Trasplantes de médula ósea, 416
  Otros órganos, 418
Asociación del tipo de HLA con la enfermedad, 419
  Desequilibrio de enlace y susceptibilidad a la enfermedad, 419
  Asociación con enfermedades inmunes, 419
Inmunología de la reproducción, 421
  El feto como aloinjerto en potencia, 421
  Control inmune de la infertilidad, 423
Resumen, 424
Lecturas adicionales, 426

INTRODUCCIÓN

Desde hace mucho, el reemplazo de órganos enfermos por un trasplante de tejido sano constituyó uno de los objetivos de la medicina, frustado en gran parte por los intentos poco cooperativos del organismo tendientes a rechazar los injertos provenientes de otros individuos. Antes de analizar la naturaleza y las implicaciones de este fenómeno de rechazo sería útil definir los términos utilizados en los trasplantes entre individuos y especies.

Autoinjerto: tejido vuelto a injertar en el donante original.

Isoinjerto: injerto entre individuos **singénicos** (es decir, de idéntica constitución genética), como gemelos idénticos o ratones de la misma cepa de línea pura.

Aloinjerto (término antiguo: homoinjerto): injerto entre individuos **alogénicos** (es decir, miembros de la misma especie, pero de distinta constitución genética), por ejemplo, entre seres humanos y de una cepa de ratones a otra.

Xenoinjerto (heteroinjerto): injerto entre individuos **xenogénicos** (es decir, de distintas especies) por ejemplo de cerdo a ser humano.

El interés se centró en la reacción por aloinjerto, si bien en la actualidad hay interés creciente por el uso de injertos de otras especies. Es probable que el procedimiento de alotrasplante más frecuente sea la transfusión de sangre, en la que son bien conocidas las lamentables consecuencias de la incompatibilidad. Se dedicó atención considerable al rechazo de injertos sólidos, por ejemplo, de piel, y se justifica describir la secuencia de los procesos. Por ejemplo, en ratones los aloinjertos de piel se asientan y se vascularizan en pocos días. Al cabo de 3 a 9 días disminuye en forma gradual la circulación y se observa una infiltración creciente de linfocitos y monocitos en el lecho del injerto, pero muy escasas células plasmáticas. Se comienza a detectar necrosis en el nivel macroscópico y al cabo de alrededor de un día se desprende por completo el injerto (fig. H17-1-1). **El rechazo presenta todas las características de una respuesta inmune**, pues muestra memoria y especificidad (hito 17-1). Además, el receptor de células T de un donante que ya rechazó un injerto presenta un rechazo acelerado a un injerto posterior del mismo tipo (fig. 17-1), lo que demuestra que las células linfáticas están programadas y mantienen la memoria del primer contacto con los antígenos del injerto.

CONTROL GENÉTICO DE LOS ANTÍGENOS DEL TRASPLANTE

La especificidad de los antígenos que intervienen en el rechazo del injerto se encuentra bajo control

El campo de los trasplantes está en gran deuda con Sir Peter Medawar, el destacado científico que los inició e inspiró su desarrollo. Incluso a principios de siglo se aceptaba el paradigma de que los injertos entre miembros no relacionados de una especie serían rechazados sin ceremonias tras un breve período inicial de aceptación (fig. H17-1-1). La base genética subyacente del rechazo se planteó a partir de las observaciones de Padgett, en Kansas City, en 1932, al ver que los aloinjertos cutáneos entre miembros de una familia tendían a sobrevivir durante más tiempo que los efectuados entre individuos no relacionados, y de la crítica demostración de J.B. Brown en St. Louis, en 1937, de que los gemelos monocigóticos (es decir, genéticamente idénticos) aceptaban injertos cutáneos entre sí. Sin embargo, recién con las investigaciones de Medawar, a principios de la Segunda Guerra Mundial, motivadas por la necesidad de tratar las graves quemaduras de los miembros de tripulaciones aéreas, se planteó la cuestión del rechazo en la inmunología. Este investigador demostró que un segundo injerto de determinado donante era rechazado con mayor rapidez e intensidad que el primero, y además que un injerto no relacionado era rechazado con la cinética de una reacción de primer tipo (fig. H17-1-2). Este **rechazo de segundo tipo** se caracteriza por tener **memoria** y **especificidad**, por lo que presenta las características de una respuesta inmunitaria. Es obvio que estas observaciones luego fueron confirmadas al transferir la capacidad para expresar una reacción de segundo tipo a través de linfocitos.

El mensaje era claro: para lograr trasplantes exitosos de tejidos y órganos en humanos era necesario superar esta barrera inmunogenética. Murray obtuvo éxito limitado en el Peter Bent Brigham Hospital, al igual que Hambuerger en París, quien injertó riñones entre mellizos dicigotos mediante radiación subletal de rayos X. El paso clave y decisivo se dio cuando

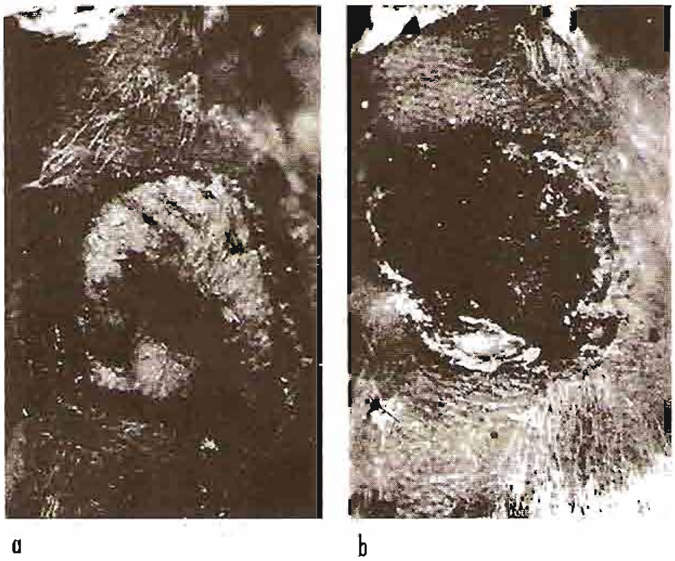


Fig. H17-1-1. Rechazo de injerto cutáneo CBA por ratón de cepa A. a) Diez días después del trasplante; zonas con cambio de color, causadas por la destrucción de epitelio y por el resecamiento de la dermis expuesta. **b)** Trece días después del trasplante; la superficie con costra indica la destrucción total del injerto. (Fotografías gentileza del profesor L. Brent.)

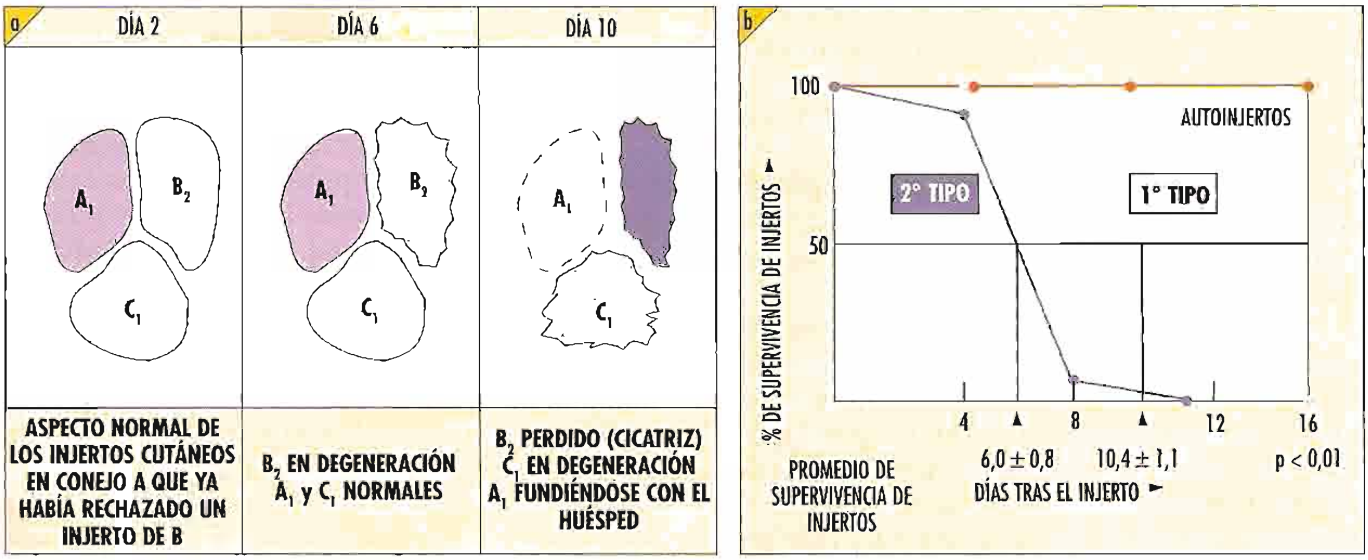


Fig. H17-1-2. Memoria y especificidad en el rechazo de aloinjertos de piel en conejos. a) Se aplican autoinjertos y aloinjertos de dos donantes B y C no relacionados a la piel de la pared torácica de un conejo A, que ya rechazó un primer injerto de B (B_1). Mientras que el autoinjerto A permanece intacto, en la primera observación, el injerto C_1 presenta rechazo de primer tipo, mientras que el segundo injerto de B (B_2) se descama con rapidez. **b)** Tiempos de supervivencia medios de los aloinjertos cutáneos de 1° y 2° tipo, donde se observa el rechazo más rápido del segundo tipo. [Según Medawar P.B. (1944) The behavior and fate of skin autografts and skin homografts (allografts) in rabbits. *Journal of Anatomy* 78,176.]

Schwartz y Damashek informaron sobre los efectos inmunosupresores del fármaco antimitótico 6-mercaptopurina, aplicado en forma independiente por Calne y Zukowski, en 1960, para prolongar aloinjertos renales en perros. Le siguió rápidamente el exitoso injerto de Murray, en 1962, de un riñón cadavérico no relacionado bajo el paraguas inmunosupresor de la azatioprina, el más eficaz derivado de la 6-mercaptopurina obtenido por Hutchings y Elion.

Esta historia está jalonada por ganadores de premios Nobel; los lectores de los relatos históricos podrán obtener mayores detalles sobre el desarrollo de este campo y los pensamientos de los científicos que brindaron este maravilloso premio a la medicina en Terasaki P.I. (ed.) (1991) *History of Transplantation; Thirty-Five Recollections*, UCLA Tissue Typing Laboratory, Los Angeles, CA, y luego, Brent (1996) *A History of Transplantation Immunology*, Academic Press, Londres.

genético. Los individuos genéticamente idénticos, por ejemplo, los ratones provenientes de una cepa pura y los gemelos homocigóticos, poseen antígenos de trasplante idénticos y es posible intercambiar con libertad los injertos entre ellos. La segregación mendeliana de los genes que controlan estos antígenos se reveló por medio de experimentos de apareamiento cruzado entre ratones de distintas cepas puras. Dado que estos ratones se crían bien dentro de determinada cepa y que siempre aceptan injertos cruzados entre ellos, deben ser homocigóticos para los genes "de trasplante". Si se consideran dos de estas cepas A y B con genes alélicos que difieren en un sitio, en cada caso los genes maternos y paternos serán idénticos y su constitución genética será *A*/*A* y *B*/*B*, respectivamente. De la cruza entre las cepas A y B se obtiene una primera generación familiar (F1) de constitución *A*/*B*. Todos los ratones F1 aceptan injertos de sus progenitores, lo que demuestra que tienen tolerancia inmunitaria para A y B, dado que los antígenos de trasplante provenientes de cada uno de los progenitores se expresan en forma codominante (fig. 4-17). Con el apareamiento cruzado de la generación F1 cabría esperar la distribución promedio de genotipos para la F2 que se muestra en la figura 17-2; sólo uno de cuatro carecería de genes *A*, por lo que rechazaría un injerto A por falta de tolerancia, y uno de cuatro rechazaría un injerto B por la misma razón. En consecuencia, para cada sitio, tres de cuatro individuos de la generación F2 aceptaría los injertos provenientes de cepas progenitoras.

En el ratón se establecieron unos 40 de estos loci, pero como ya se vio, predomina el locus complejo denominado H2 (HLA en seres humanos), en el sentido que controla los antígenos de trasplante "fuertes" que provocan reacciones intensas ante aloinjertos. En capítulos previos (véase hito 4-2, pág. 79) se estudiaron en detalle la estructura

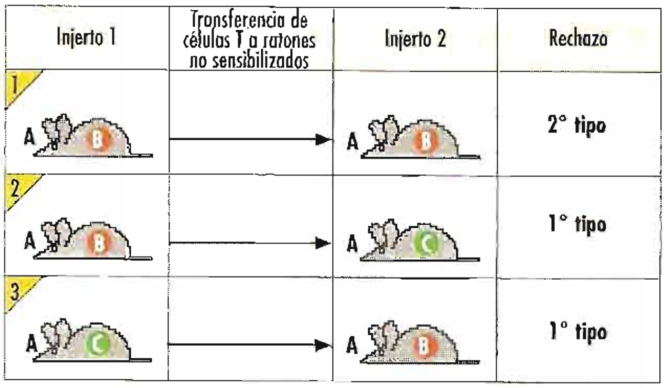


Fig. 17-1. El rechazo del injerto induce una memoria que es específica y puede ser transferida por las células T. En el experimento 1, una cepa A, receptora de células T provenientes de otro ratón de la cepa A que había rechazado un injerto de la cepa B, presenta un rechazo acelerado del injerto (es decir, de 2° tipo). Los experimentos 2 y 3 muestran la especificidad del fenómeno respecto de la tercera cepa C, no relacionada genéticamente con las otras dos.

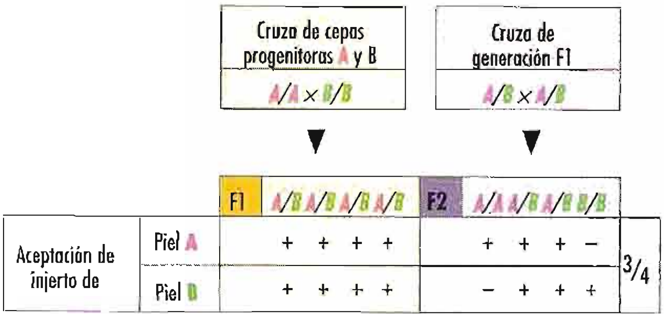


Fig. 17-2. Herencia de los genes que controlan los antígenos de trasplante. *A* es un gen que expresa el antígeno A, y B es el correspondiente gen alélico en el mismo locus genético. Las cepas puras son homocigóticas para *A*/*A* y *B*/*B*, respectivamente. Dado que los genes son codominantes, un animal con genoma A/B expresará ambos antígenos y se tornará tolerante a ellos, por lo que aceptará injertos de donantes A o B. Las ilustraciones muestran que para cada gen que controla la especificidad de un antígeno de trasplante, tres cuartos de la generación F2 aceptará un injerto de piel del progenitor. Para n genes, la fracción es $(3/4)^n$. Si se retrocruzan animales F1 *A*/*B* con un progenitor *A*/*A*, la mitad de la progenie será *A*/*A* y la mitad será *A*/*B*; sólo los últimos aceptarán injertos B.

(véase fig. 4-11) y la biología de este **locus de histocompatibilidad mayor**. Los antígenos de trasplante no H2 o "menores", por ejemplo el H-Y masculino, son reconocidos como péptidos procesados asociados con las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) sobre la superficie celular por las células T, pero no por todas las células B. No debe inducir a confusión el uso de la denominación "menor" como que no da origen a problemas severos de rechazo, si bien son más lentos que el CMH.

ALGUNAS OTRAS CONSECUENCIAS DE LA INCOMPATIBILIDAD DEL CMH

Las diferencias de CMH clase II producen una reacción linfocitaria mixta (RLM)

Cuando se cultivan juntos linfocitos provenientes de individuos con distinto haplotipo de clase II se observa transformación y mitosis de células blásticas (RLM), y las células T de cada población de linfocitos reaccionan contra los determinantes CMH clase II en la superficie de la otra población. Las células que responden pertenecen en su mayor parte a una población de linfocitos T CD4$^+$, y es estimulada por los determinantes clase II presentes sobre todo en las células B, los macrófagos y en especial las células dendríticas presentadoras de antígeno. En consecuencia, la RLM es inhibida por antisuero contra determinantes clase II sobre las células estimuladoras.

Reacción injerto versus huésped (i.v.h.)

Cuando se transfieren células T competentes de un donante a un receptor incapaz de rechazarlas, las células injertadas sobreviven y tienen tiempo para reconocer los antígenos del huésped y dar origen a una reacción inmune contra ellas. En lugar de la reaccción normal del trasplante, del huésped contra el injerto, se observa la reacción inversa, denominada injerto versus huésped (i.v.h.). En el roedor joven puede haber inhibición del crecimiento (enanismo), esplenomegalia y anemia hemolítica (debido a la producción de anticuerpos contra eritrocitos). En el ser humano se observa fiebre, anemia, pérdida ponderal, erupciones, diarrea y esplenomegalia, y se piensa que las citocinas, sobre todo el factor de necrosis tumoral (TNF), son las principales mediadoras de patologías. Cuanto más "fuerte" es la diferencia de antígeno de trasplante, más severa será la reacción. Cuando el donante y el receptor difieren en los loci del HLA o H-2 las consecuencias pueden ser fatales, si bien se debe destacar que pueden ser igualmente difíciles de controlar las reacciones contra antígenos de trasplante menores dominantes o las combinaciones de ellos.

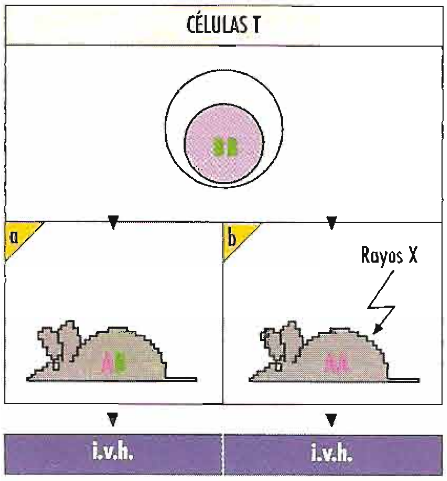


Fig. 17-3. Reacción injerto versus huésped. Cuando se inoculan células T competentes en un huésped incapaz de reaccionar contra ellas, las células injertadas pueden reaccionar contra los antígenos de las células del huésped, a las que reconocen como extrañas. Las reacciones generadas pueden ser fatales. Se ilustran dos de muchas situaciones posibles: **a)** el híbrido AB recibe células de un progenitor (BB) que son toleradas, pero reaccionan contra el antígeno A de las células huésped; **b)** un receptor AA expuesto a rayos X en el que se restableció la capacidad inmunitaria con células BB no puede reaccionar contra el injerto y tiene lugar una reacción i.v.h.

En la figura 17-3 se ilustran dos posibles situaciones que conducen a reacciones i.v.h. En seres humanos pueden aparecer en sujetos anérgicos desde el punto de vista inmune, que reciben injertos de médula ósea, por ejemplo, en casos de inmunodeficiencia combinada (véase pág. 355), de aplasia eritrocitaria tras accidentes con radiaciones o como posible forma de terapéutica oncológica. Las células T competentes en sangre o presentes en órganos injertados en pacientes inmunosuprimidos pueden producir reacciones i.v.h.; lo mismo puede ocurrir con células de la madre que de manera espontánea atraviesan la placenta, si bien en este caso aún no se dispone de evidencias sobre enfermedades causadas por este mecanismo en seres humanos.

MECANISMOS DE RECHAZO DEL INJERTO

Los linfocitos pueden mediar el rechazo

Gran parte de los trabajos llevados a cabo sobre rechazo de aloinjertos se refiere a trasplantes de piel o tumores sólidos, dado que es relativamente sencillo seguir su curso. En estos casos hay escasa base de sustento para la propuesta de que los anticuerpos humorales son un instrumento para la destrucción del injerto, si bien como se verá más adelante esto no siempre ocurre con trasplantes de otros órganos, por ejemplo, el riñón. Mientras que la transferencia pasiva de *suero* de un animal que rechazó un aloinjerto de piel por lo general es incapaz de acelerar el rechazo de un injerto similar sobre el animal receptor, la inyección de células *linfáticas* (en particular los linfocitos pequeños recirculantes) acorta con eficacia la supervivencia del injerto (véase fig. 17-1).

Un papel esencial de las células linfáticas en el rechazo de primer tipo sería compatible con la histología de la reacción temprana, que muestra infiltración de células mononucleares con escasos polimorfonucleares o células plasmáticas (fig. 17-4). Como ya se mencionó, el efecto dramático de la timectomía neonatal sobre la prolongación de los injertos cutáneos y la supervivencia prolongada de los injertos en niños con deficiencias tímicas sugieren la relación entre los linfocitos T y estas reacciones. En pollos, el rechazo de homoinjertos y la reactividad i.v.h. se ven afectados por la timectomía neonatal, pero no por la bursectomía. Se obtuvieron evidencias más directas a partir de estudios in vitro tendientes a demostrar que las células T obtenidas de ratones que rechazan un aloinjerto pueden destruir células blanco portadoras de los antígenos del injerto in vitro. Estudios recientes sobre la importancia como efectoras de las células CD4$^+$ murinas y humanas arrojaron dudas, quizás erróneas, sobre el papel de las células citotóxicas CD8 en el rechazo de injertos in vivo; si bien en ocasiones las células CD4 pueden ser citotóxicas para los blancos clase II, por lo general se asocian con actividad de células helper, en este caso particular para precursores Tc, y con la producción de las citocinas que median las reacciones de hipersensibilidad retardada. Quizás intervengan para facilitar el acceso de las células Tc a sus células blanco. Se sabe que el interferón γ (IFNγ) estimula la expresión del antígeno sobre la célula blanco del injerto, por lo que incrementa su vulnerabilidad a las células citotóxicas CD8.

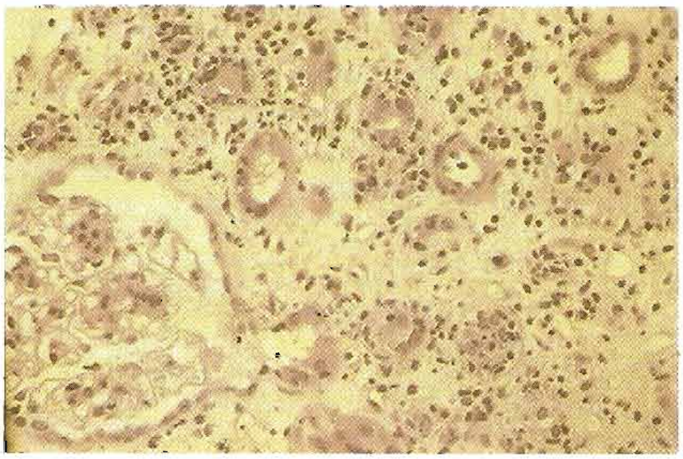
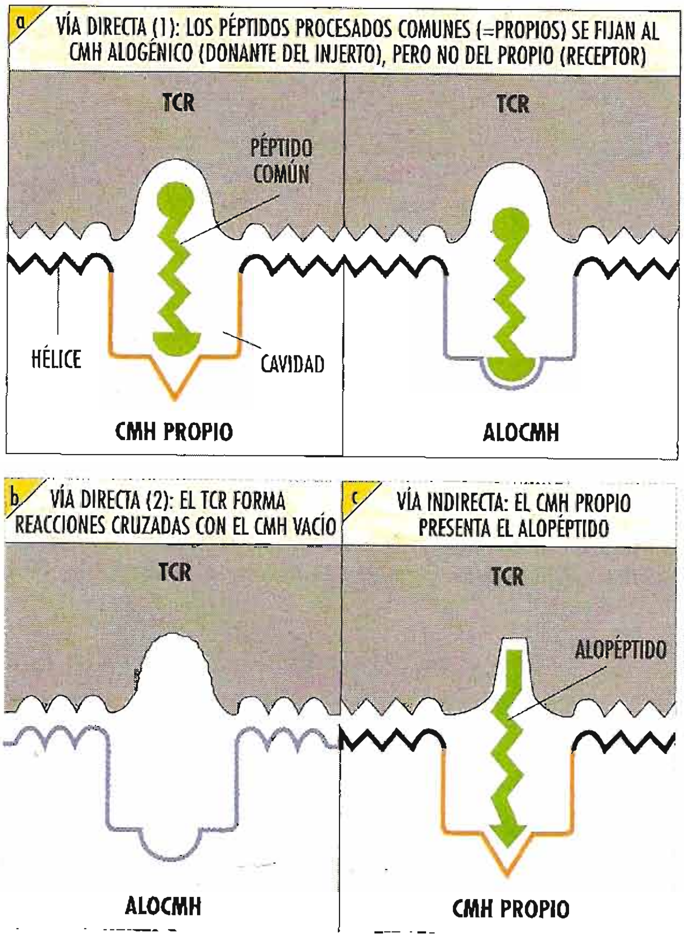


Fig. 17-4. Rechazo agudo de aloinjerto renal humano que muestra densa infiltración celular del intersticio por células mononucleares. (Fotografía gentileza de los doctores M. Thompson y A. Dorling.)

La respuesta contra el aloinjerto es poderosa

Cabe recordar que se definió el CMH por su capacidad para provocar el más poderoso rechazo de injertos entre miembros de la misma especie. Esta intensidad del rechazo por CMH incompatible es consecuencia de la **frecuencia muy elevada de células alorreactivas** (es decir, que reaccionan con aloinjertos) **presentes en individuos normales**. Mientras que apenas una fracción del porcentaje de la población normal de células T es específica para determinado péptido aislado, más del 10% de las células T reacciona con aloantígenos. Este fenómeno notable parece basarse en gran medida en la capacidad de las **células T alorreactivas para reconocer alo-CMH** (es decir, el aloinjerto), **además de los péptidos propios** (fig. 17-5a). En esencia, el CMH alogénico difiere del receptor en los residuos de la hendidura que entran en contacto con el péptido procesado, aunque mucho menos en las regiones helicoidales más conservadas, que son reconocidas por el TCR. Al tener distinta estructura de la hendidura, el alo-CMH puede fijar varios péptidos derivados de proteínas comunes al donante y al huésped, que podrían no coincidir en la hendidura del CMH del huésped, por lo que no inducen autotolerancia. Así, no se habrán eliminado las células T del huésped que reconocen alo-CMH más péptidos co-



a VÍA DIRECTA (1): LOS PÉPTIDOS PROCESADOS COMUNES (=PROPIOS) SE FIJAN AL CMH ALOGÉNICO (DONANTE DEL INJERTO), PERO NO DEL PROPIO (RECEPTOR)

b VÍA DIRECTA (2): EL TCR FORMA REACCIONES CRUZADAS CON EL CMH VACÍO

c VÍA INDIRECTA: EL CMH PROPIO PRESENTA EL ALOPÉPTIDO

Fig. 17-5. Reconocimiento de antígenos del injerto por células T alorreactivas. Vía directa. a) Las diferencias polimorfas afectan en gran medida los péptidos, pero no el contacto del receptor de células T (TCR) con el CMH del donante. Bajo estas circunstancias, la molécula de CMH del donante será considerada "propia" por las células T del huésped, pero, a diferencia del CMH propio, la cavidad de CMH del donante sobre las células presentadoras de antígeno del injerto se unirá a numerosos péptidos procesados, celulares o séricos, comunes al injerto y al receptor, contra los cuales las células T del huésped que responden no se habían transformado en tolerantes, por lo que pueden provocar una reacción en hasta el 10% de estas células T del huésped. Esto brinda la intensidad de la respuesta contra el aloinjerto. La mayor credibilidad de esta explicación para la elevada frecuencia de células T alorreactivas se basa en estudios del aislamiento de diversos clones de células T que reaccionan con los CMH propios y alogénicos, cada uno de los cuales se fija a distintas secuencias peptídicas. **b)** Pequeños cambios de residuos polimorfos en la hélice alfa pueden permitir la fijación espontánea de los TCR al alo-CMH, con independencia del péptido asociado. La generación de múltiples enlaces de esta naturaleza entre la CPA y la célula T puede dar origen a una interacción con fuerza suficiente para permitir la activación de la célula T. **Vía indirecta. c)** Los péptidos polimorfos derivados del injerto pueden ser presentados por el CMH propio, sobre las células presentadoras de antígeno del huésped, a una población al principio pequeña de células T, que se expande con el paso del tiempo. Las regiones que difieren del CMH propio, en lo que respecta a los residuos polimorfos, se indican con azul.

munes, y estarán disponibles para reaccionar con la gran cantidad de péptidos diferentes que se unen a la hendidura alogénica de las células presentadoras de antígeno (CPA) del donante, que migran al tejido linfoide secundario del receptor del injerto. En algunos casos, los residuos polimorfos se encuentran dentro de las regiones de las hélices del CMH que entran en contacto directo con el TCR y una **proporción del repertorio de células T forma reacciones cruzadas y se une con gran afinidad y en forma aleatoria al CMH del donante** (fig. 17-5b). La adherencia de la célula T a la CPA será muy firme, dado que los TCR se fijan a todas las moléculas de CMH del donante sobre la CPA, mientras que en el caso del reconocimiento normal de CMH-péptido sólo una pequeña proporción de las hendiduras de CMH serán ocupadas por el péptido específico en cuestión. Estas **vías directas de inmunización** por el CMH del aloinjerto suelen ser iniciadas por la CPA más poderosa, la célula dendrítica, y dominan los procesos de sensibilización temprana, dado que se puede bloquear esta fase aguda del rechazo (véase más adelante) mediante anticuerpos contra el *alo-CMH* clase II.

Sin embargo, con el tiempo y a medida que las CPA del donante del injerto son reemplazadas por las células del receptor puede tener lugar otro mecanismo de rechazo basado en una **vía indirecta de sensibilización** en la que interviene la **presentación de péptidos alogénicos procesados por el CMH del huésped** (fig. 17-5c). Si bien cabría esperar que las células T que reconocen los péptidos derivados de las proteínas del injerto polimorfo se encuentren con escasa frecuencia, en comparación con la observada con cualquier antígeno extraño, un injerto mantenido durante un período prolongado tendrá tiempo para expandir esta pequeña población en forma significativa, y un rechazo posterior dependerá en forma progresiva de esta vía indirecta. En estas circunstancias se puede demostrar que el CMH clase II *antirreceptor* prolonga los aloinjertos renales en ratas.

Papel de los anticuerpos humorales

Desde hace mucho se sabe que es posible destruir células alogénicas aisladas, por ejemplo, los linfocitos, mediante reacciones citotóxicas (tipo II) en las que intervienen anticuerpos humorales. Sin embargo, si bien las experiencias anteriores con injertos cutáneos y tumores sólidos sugerían que no eran susceptibles con facilidad a la acción de anticuerpos citotóxicos, en el presente queda claro que esto no se produce en todos los tipos de trasplantes de órganos. Este punto queda ilustrado cuando se consideran las distintas formas de rechazo a aloinjertos renales.

El *rechazo hiperagudo* al cabo de minutos del trasplante se caracteriza por un aumento de la viscosidad sanguínea y por la presencia de microtrombos en el glomérulo, y tiene lugar en pacientes con anticuerpos humorales preexistentes, ya sea por incompatibilidad por grupo sanguíneo o por sensibilización previa respecto de CMH clase I por transfusión sanguínea.

El *rechazo temprano agudo* tiene lugar unos 10 días después del trasplante y se caracteriza por presentar infiltración celular densa (fig. 17-4) y ruptura de los capilares peritubulares, y parece ser una reacción de hipersensibilidad mediada por células en la que interviene sobre todo el ataque de células citotóxicas CD8 sobre las células del injerto cuya expresión del antígeno CMH es estimulada por el interferón γ.

El *rechazo tardío agudo* tiene lugar a partir del día 11 en pacientes suprimidos con prednisolona y azatioprina, y se puede deber a la superación de la inmunosupresión por la respuesta inmune, o ser causado por la unión de inmunoglobulinas (posiblemente anticuerpos) y complemento a las arteriolas y los capilares glomerulares, donde se los puede visualizar mediante técnicas de inmunfluorescencia. Estos depósitos de inmunoglobulina sobre las paredes vasculares inducen la agregación plaquetaria en los capilares glomerulares, que causa insuficiencia renal aguda (fig. 17-6). Se debe considerar la posibilidad de una lesión de las células recubiertas por anticuerpo mediada por citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo.

El *rechazo insidioso y tardío* se asocia con depósitos subendoteliales de inmunoglobulina y C3 sobre las membranas basales glomerulares, que en ocasiones pueden ser la expresión de un trastorno por inmunocomplejos subyacente (que en principio requiere el trasplante), o quizá de la formación de un complejo con antígenos solubles derivados del riñón injertado.

En consecuencia, es considerable la complejidad de la acción y la interacción de los factores celular y humoral en el rechazo de injertos, y en la figura 17-7 se presenta un intento por resumir los mecanismos cuya intervención se postula.

También hay circunstancias en las que se observa que los anticuerpos *protegen* un injerto contra la destrucción, fenómeno denominado *incentivación*.

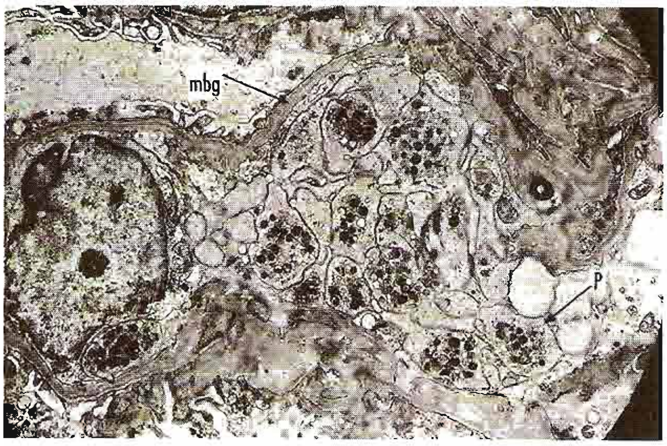


Fig. 17-6. Rechazo tardío agudo de aloinjerto renal humano, que muestra agregación plaquetaria en un capilar glomerular, inducida por depósito de anticuerpo sobre la pared vascular (microfotografía electrónica). mbg, membrana basal glomerular; P, plaqueta. (Fotografía gentileza del profesor K. Porter.)

PREVENCIÓN DE RECHAZO DEL INJERTO

Compatibilización de tipos de tejido entre el donante y el receptor del injerto

Dado que las diferencias de CMH provocan el más enconado rechazo de injertos, se llevó a cabo un esfuerzo extraordinario tendiente a definir estas especificidades antigénicas, para intentar minimizar el rechazo mediante la compatibilización del injerto y el receptor de modo muy similar a como se hacen los controles cruzados para las transfusiones sanguíneas (de hecho, el grupo ABO proporciona fuertes antígenos de trasplante).

Tipificación del HLA tisular

En la actualidad los alelos HLA se definen por sus secuencias genéticas, y los individuos se pueden clasificar de acuerdo con la reacción en cadena de la polimerasa (ing. *p*olymerase *c*hain *r*eaction, PCR) por medio de pares de cebadores discriminantes (fig. 17-8). Las moléculas codificadas por los sitios *HLA-D* clase II provocan respuestas de células T CD4, mientras que los productos HLA-A, HLA-B y HLA-C son blanco de células T CD8 alorreactivas.

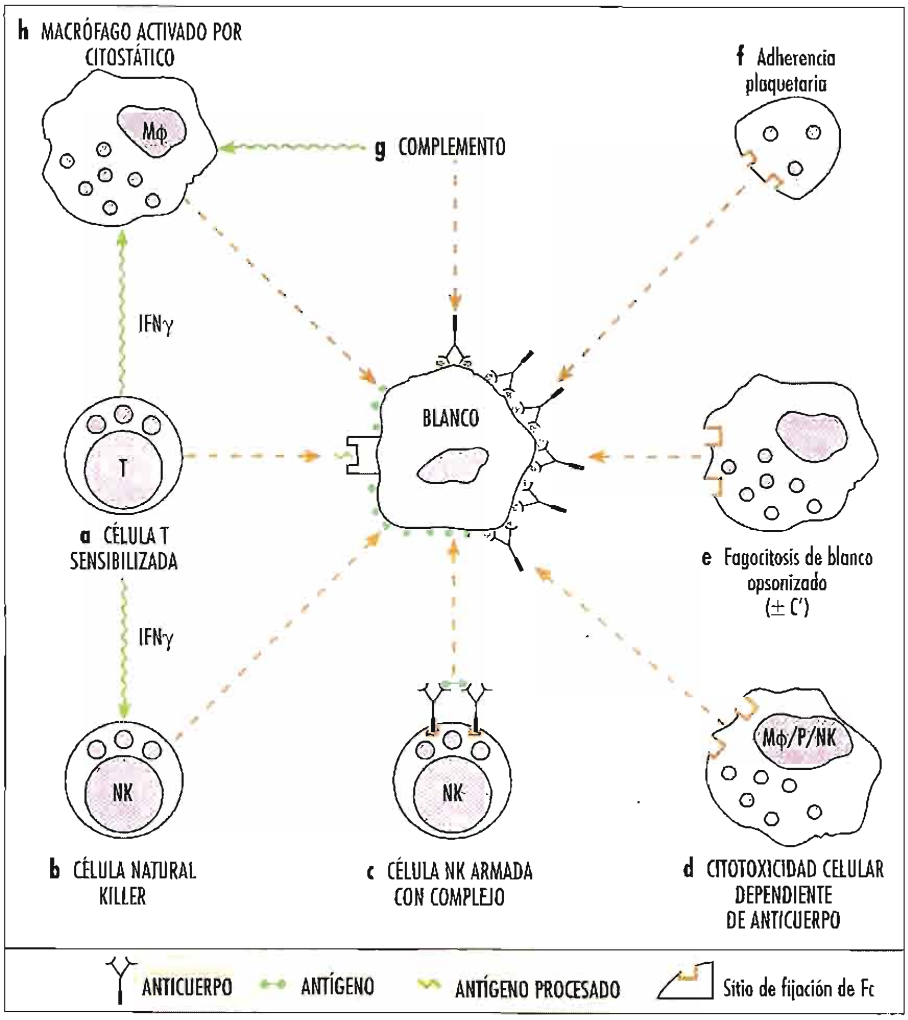

h MACRÓFAGO ACTIVADO POR CITOSTÁTICO
Mϕ
f Adherencia plaquetaria
g COMPLEMENTO
IFNγ
BLANCO
T
a CÉLULA T SENSIBILIZADA
e Fagocitosis de blanco opsonizado (± C')
IFNγ
Mϕ/P/NK
NK
NK
b CÉLULA NATURAL KILLER
c CÉLULA NK ARMADA CON COMPLEJO
d CITOTOXICIDAD CELULAR DEPENDIENTE DE ANTICUERPO
ANTICUERPO
ANTÍGENO
ANTÍGENO PROCESADO
Sitio de fijación de Fc

Fig. 17-7. Mecanismos de destrucción de células blanco. Mϕ, macrófago; P, polimorfonuclear; NK, célula natural killer. **a)** Destrucción directa por células Tc y lesión tisular indirecta a través de la liberación de citocinas por células T con hipersensibilidad de tipo retrasada. **b)** Destrucción por células NK (véase pág. 19) incentivada por interferón. **c)** Destrucción específica por células NK armadas con complejo inmune que reconoce el blanco a través de valencias libres de anticuerpo en el complejo. **d)** Ataque por citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo (en a-d la destrucción es extracelular). **e)** Fagocitosis del blanco recubierto por anticuerpo (estimulado por C3b fijado). **f)** Adhesión de plaquetas a los anticuerpos fijados a la superficie del endotelio vascular del injerto, que induce la formación de microtrombos. **g)** Citotoxicidad mediada por complemento. **h)** Macrófagos activados en forma inespecífica por agentes tales como BCG, endotoxina, poli-I: C, IFNγ y posiblemente, C3b son citostáticos y en ocasiones citotóxicos para las células tumorales en proceso de división, quizá a través de la acción extracelular de TNF y radicales $O_2^{-}\cdot$ generados en la superficie celular (véase pág. 6).

Polimorfismo del sistema HLA del ser humano

Debido a la cantidad de alelos en cada locus y al número de locis por individuo (fig. 17-9) se aprecia con facilidad que se origina un grado excepcional de polimorfismo, complicado además por la presencia de numerosas formas alotípicas de los componentes C2, C4a y C4b de complemento CMH clase III y el factor B.

Este notable polimorfismo tiene gran valor para las especies, dado que la necesidad de que las células T reconozcan sus propias especificidades individuales proporciona una defensa contra la simulación molecular microbiana por la que una especie completa podría estar en situación de riesgo por la incapacidad de reconocer como extraño un organismo que generara complejos CMH-péptido similares a los propios. También es posible que la existencia de un grado elevado de polimorfismo de alguna manera contribuya para mantener la diversidad de reconocimiento antigénico dentro del sistema linfático de una especie dada y también asegure la heterocigosis (vigor híbrido).

Valor de la compatibilización de los tipos de tejido

Los adelantos de las técnicas operativas y el uso de fármacos como la ciclosporina A disminuyeron en gran medida los efectos de las incompatibilidades de especificidades de HLA en la supervivencia de injertos sólidos; sin embargo, la mayoría de los que realizan los trasplantes prefiere un grado razonable de compatibilidad (véase fig. 17-17). Hay consenso respecto de que la compatibilidad en los sitios DR redunda en mayores beneficios que en los sitios B, que a su vez tienen mayor relevancia para la supervivencia de injertos que los sitios A. Además, en la actualidad se toma muy en serio la necesidad de efectuar pruebas de compatibilidad cruzadas con el fin de detectar receptores presensibilizados. Los trasplantes de médula ósea requieren mayor grado

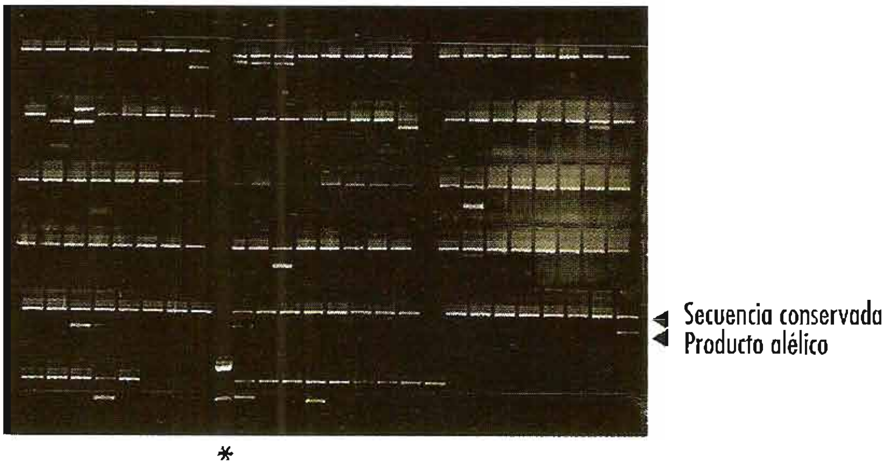


Fig. 17-8. **Tipos de HLA tisular.** La identificación de alelos HLA depende de la amplificación por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) mediante cebadores específicos de secuencia. La fotografía muestra las reacciones de 96 pares de cebadores específicos para cada alelo, según se enumera en el protocolo presentado por Bunce M et al (1995) *Tissue Antigens* **46**, 355. Se agregó una muestra de DNA para ser tipificada a cada mezcla de PCR, compuesta por un par de cebadores control (que generan un producto de 796 pares de bases obtenido de una secuencia de intrones DRB1) y cebadores para generar productos específicos de alelo. Tras la amplificación del DNA el producto se sometió a electroforesis en gel preteñido con bromuro de etidio y se visualizó mediante luz ultravioleta. Todas las corridas contienen una banda correspondiente al producto control, mientras que las reacciones positivas son las corridas que contienen una banda adicional específica de alelo de tamaño predeterminado. Esta muestra contiene el tipo HLA tipo A*2501, 26-1-04; B*1401/02, 1801/02; Cw*0802, 1203; DRB1*1501-05, 0701; DRB4*0101-03; DRB5*0101/02/0201/02; DQB1*0201/02, 0602. *Este carril contiene una escalera de pares de bases de DNA. Las ventajas del método son la asignación correcta de homocigosis, la mayor resolución y la mayor exactitud. (Fotografía cedida gentilmente por el doctor D. Briggs.)

de compatibilidad y en ese aspecto pueden ser de gran utilidad los métodos más exactos de tipificación de DNA.

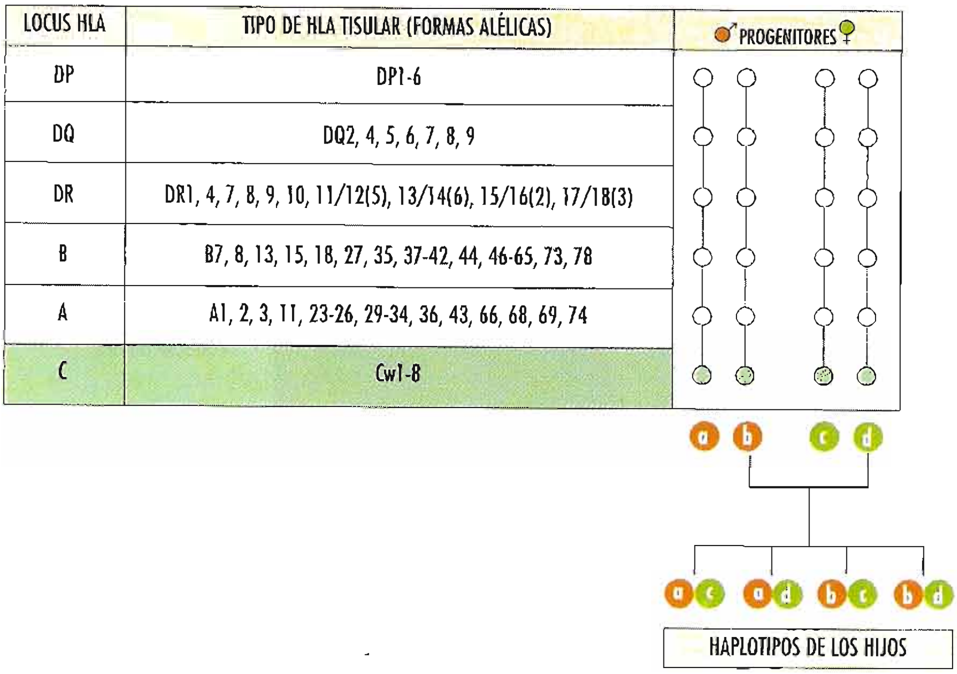
Debido a los varios miles de distintos fenotipos HLA posibles (fig. 17-9) se suele trabajar con un gran *pool* de receptores posibles sobre base continental (eurotrasplante), para poder lograr la mayor compatibilidad posible cuando se presenta un material para trasplante. La situación mejora cuando se puede incrementar el *pool* de órganos disponibles mediante el desarrollo de bancos de almacenamiento de tejidos por períodos prolongados, si bien las técnicas actuales no son muy buenas, salvo en lo que respecta a células de médula ósea, que se pueden mantener viables incluso después de congelarse y descongelarse. En el caso de órganos apareados, como los riñones, se pueden utilizar donantes vivos; los hermanos brindan las mayores posibilidades de una buena compatibilidad (véase fig. 17-9). Sin embargo, el uso de donantes vivos plantea problemas éticos difíciles y se tiende a incentivar el uso de material cadavérico. Hay interés creciente en la posibilidad de utilizar órganos de animales (véase más adelante) o sustitutos mecánicos, mientras que otros científicos prefieren intentar prevenir las patologías.

Agentes productores de inmunosupresión general

Se puede controlar el rechazo de injertos mediante el uso de agentes que interfieren en forma inespecífica en la inducción o la expresión de la respuesta inmune (fig. 17-10). Dado que estos agentes son inespecíficos, los pacientes que reciben terapéutica inmunosupresora son susceptibles a infecciones; también presentan mayor tendencia a desarrollar cánceres linforreticulares, en particular los de etiología viral.

Poblaciones linfoides como blanco

Los agentes monoclonales anti-CD3 tienen amplio uso como reactivos anticélulas T para revertir el rechazo agudo del injerto, pero los posibles beneficios terapéuticos se vieron restringidos por su inmunogenicidad y tendencia a activar un síndrome severo de liberación de citocinas con síntomas complejos "similares a los de la gripe". Estos problemas se pueden obviar mediante la "humanización" del anticuerpo (véase pág. 137) y una mutación en la posición 297, para impedir la glucosilación y la fija-



LOCUS HLA	TIPO DE HLA TISULAR (FORMAS ALÉLICAS)
DP	DP1-6
DQ	DQ2, 4, 5, 6, 7, 8, 9
DR	DR1, 4, 7, 8, 9, 10, 11/12(5), 13/14(6), 15/16(2), 17/18(3)
B	B7, 8, 13, 15, 18, 27, 35, 37-42, 44, 46-65, 73, 78
A	A1, 2, 3, 11, 23-26, 29-34, 36, 43, 66, 68, 69, 74
C	Cw1-8

Fig. 17-9. Especificidades de HLA polimorfo y su herencia. El complejo se encuentra en el cromosoma 6, con el locus DP más cercano al centrómero. Los números en los loci A y B no se superponen. La nomenclatura de los alelos DR se establece en Bodmer J.G *et al* (1994) *Tissue Antigens* **44**, 1. DR11/12(5) muestra que la vieja nomenclatura pre-Bodmer DR5 ahora se puede dividir por análisis de DNA en dos nuevas especificidades, DR11 y DR12. Esta lista incluye los alelos más comunes, pero no es completa. Dado que hay varios alelos posibles en cada locus, la probabilidad de que un par de sujetos de la población general posea especificidades HLA idénticas es muy baja. Sin embargo, existe una probabilidad de 1:4 de que dos hermanos sean idénticos en este aspecto, porque cada grupo de especificidades en un mismo cromosoma forma un haplotipo que se hereda en bloque, lo que permite cuatro combinaciones posibles de cromosomas maternos y paternos. Los progenitores y la progenie sólo pueden ser idénticos (1:2 de probabilidad) si la madre y el padre tienen un haplotipo en común.

ción posterior a los receptores Fc y el complemento. En el presente se dispone de una IgM monoclonal para regiones conservadas del TCR, que parece provocar menos reacciones adversas que el anti-CD3 convencional.

La cadena α del receptor IL-2 (CD25) expresada por las células T activadas, pero no las células en reposo, representa otro objetivo pasible de utilizar. Una versión humanizada de un monoclonal murino anti-IL-2Rα, denominado daclizumab (un nombre que parece derivado de un cuento de Harry Potter), tenía una vida media más prolongada y, obviamente, menor inmunogenicidad. Cuando se utilizó para complementar la inmunosupresión de base estándar compuesta por ciclosporina más corticosteroides sólo se produjeron episodios de rechazo agudos a los seis meses en el 28% en receptores de injertos renales cadavéricos, en comparación con el 47% de los controles con placebo. Los resultados presentan entidad positiva suficiente para que la FDA permitiera el lanzamiento al mercado de daclizumab con el objeto de usarlo en la prevención del rechazo agudo del trasplante renal. Tras la relativa facilidad de trasplante de médula ósea alogénica en pacientes con deficiencia de la molécula de adhesina LFA-1 (véase pág. 348), en el presente la atención se centra más en el uso de anti-LFA-1 como inmunosupresor para estos trasplantes.

Fármacos inmunosupresores

El desarrollo de una respuesta inmune requiere la proliferación activa de una cantidad relativamente pequeña de linfocitos sensibles a antígeno, con el objeto de producir una población de células sensibilizadas de tamaño suficiente para ser efectiva. Muchos de los fármacos inmunosupresores utilizados en la actualidad se usaron primero en quimioterapia oncológica, debido a su toxicidad para las células en proceso de división. Además de las complicaciones de la inmunosupresión general ya mencionada, estos agentes antimitóticos presentan toxicidad especial para las células de la médula ósea y del in-

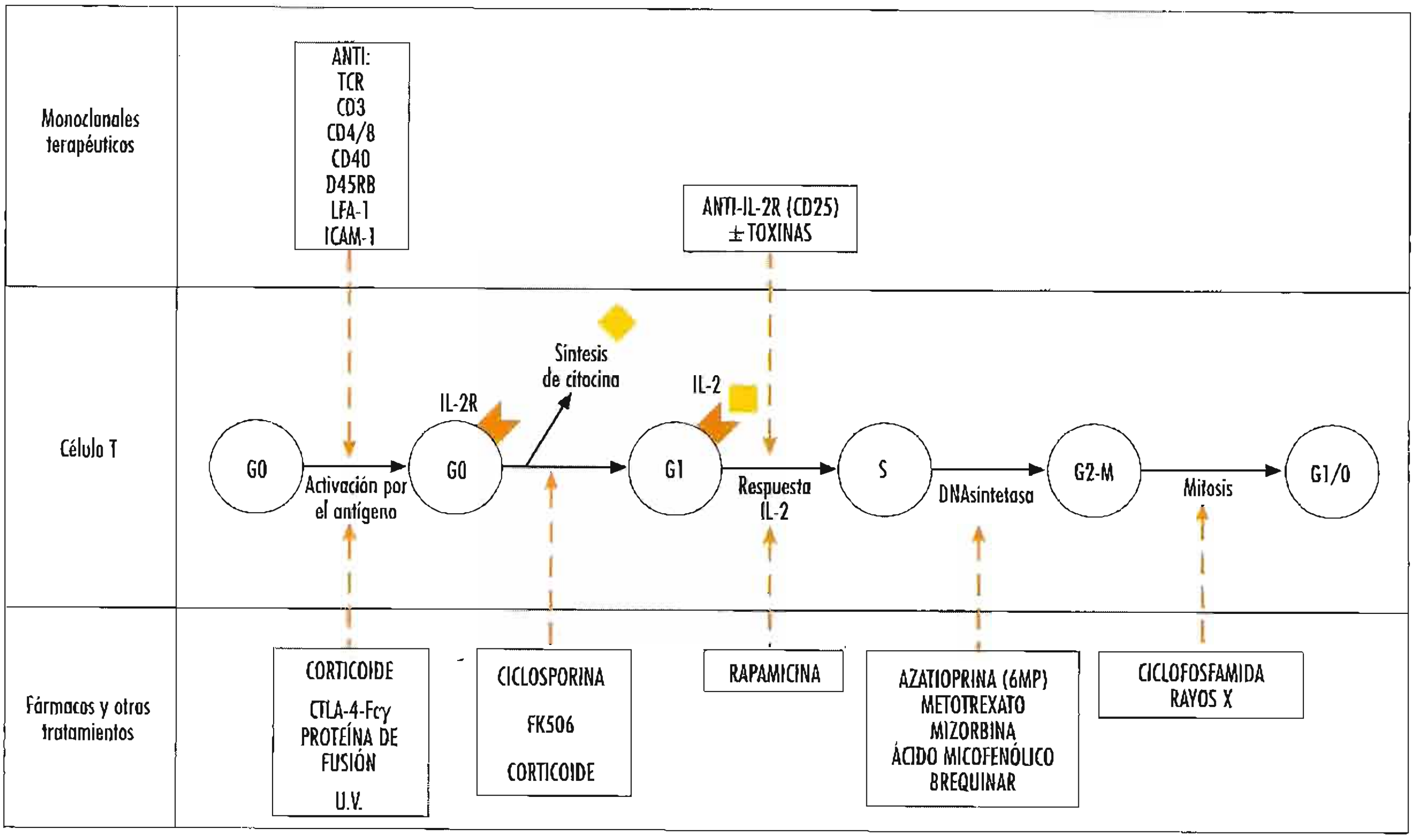

Monoclonales terapéuticos
ANTI:
TCR
CD3
CD4/8
CD40
D45RB
LFA-1
ICAM-1
ANTI-IL-2R (CD25)
±TOXINAS
Célula T
Síntesis de citocina
IL-2R
IL-2
G0
Activación por el antígeno
G0
G1
Respuesta IL-2
S
DNAsintetasa
G2-M
Mitosis
G1/0
Fármacos y otros tratamientos
CORTICOIDE
CTLA-4-Fcγ
PROTEÍNA DE FUSIÓN
U.V.
CICLOSPORINA
FK506
CORTICOIDE
RAPAMICINA
AZATIOPRINA (6MP)
METOTREXATO
MIZORBINA
ÁCIDO MICOFENÓLICO
BREQUINAR
CICLOFOSFAMIDA
RAYOS X

Fig. 17-10. Agentes inmunosupresores utilizados para controlar el rechazo del injerto. El nuevo nombre de FK506 es tacrolimus. El ácido micofenólico, un análogo de purina producido por el metabolismo de mofetilo micofenolato, es un poderoso inmunosupresor nuevo, sometido a estudios tempranos, que inhibe la proliferación pero también suprime la expresión de CD25, CD71, CD154 (CD40L) y CD28. Otro poderoso fármaco es la desoxiespergualina, que interfiere en la función linfocitaria en una forma que aún se desconoce. La leflunomida bloquea efectivamente la síntesis in vivo de anticuerpos en forma dependiente e independiente de T, al inhibir la dihidroorotato deshidrogenasa, una enzima requerida para la síntesis de novo de uridina 5'-PO_4. El tratamiento simultáneo con agentes que actúan en estadios en secuencia en el desarrollo de la respuesta del rechazo debería producir una fuerte sinergia, lo que se observa con claridad con la ciclosporina A y la rapamicina.

testino delgado, por lo que se deben utilizar con sumo cuidado.

Un fármaco de uso habitual en este campo es la **azatioprina**, con efecto preferencial sobre las reacciones mediadas por células T. Se degrada en el organismo, primero a 6-mercaptopurina y luego al agente activo ribotida. Debido a la similitud morfológica compite con el ácido inosínico por las enzimas que intervienen en la síntesis de ácidos guanílico y adenílico; también inhibe la síntesis de 5-fosforribosilamina, un precursor de ácido inosínico, por medio de un mecanismo de retroalimentación. El resultado neto es la inhibición de la síntesis de ácidos nucleicos. Otro fármaco, el **metotrexato**, también inhibe la síntesis de ácidos nucleicos por su acción antagonista del ácido fólico. Es probable que el derivado de la N-mostaza **ciclofosfamida** ataque el DNA por alquilación y formación de enlaces cruzados que impiden la duplicación correcta durante la división celular. Estos agentes parecen ejercer sus efectos lesivos sobre las células durante la mitosis, por lo que son más potentes cuando se administran tras la presentación del antígeno, en el momento en que se dividen las células sensibles al antígeno.

Un grupo interesante de metabolitos micóticos tiene un efecto notable sobre los trasplantes de ser humano y la terapéutica de los trastornos inmunitarios por su capacidad de afectar las células T. La **ciclosporina A** (CsA) es un péptido cíclico hidrófobo neutro que contiene 11 aminoácidos, es muy soluble y bloquea en forma selectiva la transcripción de IL-2 en células T activadas. No se ven afectadas las células en reposo portadoras de la memoria vital para la inmunidad contra infecciones microbianas, y es escasa la toxicidad sobre las células en proceso de división en intestino y médula ósea. Algunos estudios también sugieren una sensibilidad exquisita de las CPA dendríticas frente al agente. Otro fármaco inmunosupresor específico para células T, **FK506**, aislado de una especie de *Streptomyces*, también blo-

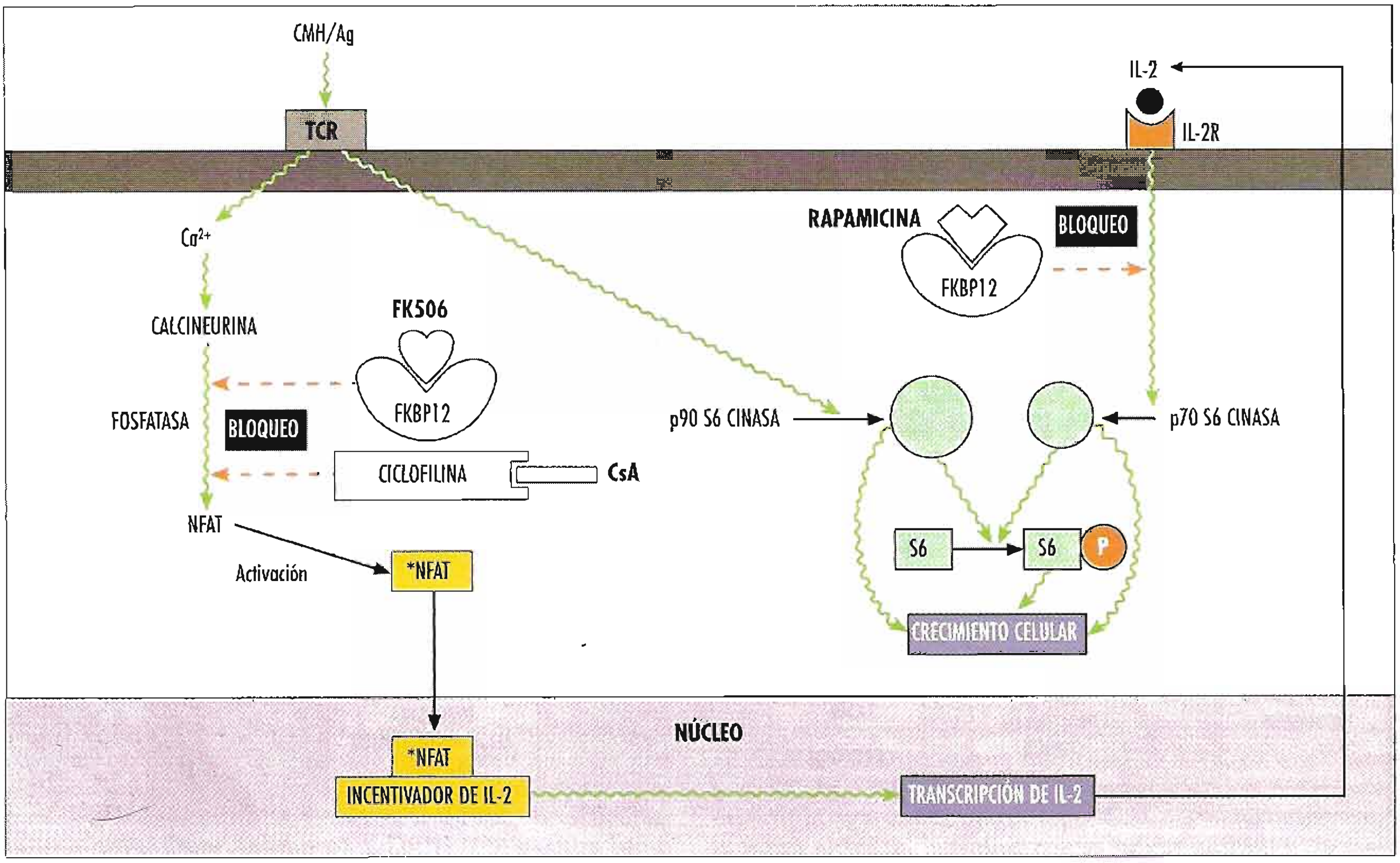


Fig. 17-11. Modo de acción de ciclosporina, FK506 y rapamicina. Los complejos de CsA con ciclofilina y de FK506 con FKBP12 (un miembro de una familia de proteínas fijadoras de FK506) se unen e inactivan la fosfatasa calcineurina, responsable de la activación de factores nucleares de las células T activadas (NFAT) (y quizá también OAP y Oct-1; véase pág. 188), que es un factor de transcripción para la síntesis de IL-2. La transfección con calcineurina disminuye los potenciales inhibidores de CsA y FK506. Al unirse a la ciclofilina, CsA sufre un cambio de conformación definido que le permite exteriorizar las cadenas laterales hidrófobas para formar una placa capaz de fijar la calcineurina como si fuera un adhesivo de dos caras. Los derivados de aminodextrán con unas 10 moléculas de CsA aglutinan las células T y si bien no pueden penetrar en los linfocitos, inhiben la síntesis de IL-2 inducida por éster forbol, lo que sugiere que tiene lugar una reacción con ciclofilina sobre la membrana celular y no en el citoplasma. El complejo rapamicina-FKBP12 bloquea la activación de p70 S6 cinasa por señales IL-2 transducidas, por lo que inhibe el crecimiento celular.

quea la producción de citocinas. La más reciente adquisición del grupo es el macrólido **rapamicina**, un producto del hongo *Streptomyces hygroscopicus* similar a FK506, pero que actúa por medio del bloqueo de señales inducido por la combinación de IL-2 con su receptor.

En la actualidad se conocen mayores detalles respecto del modo de acción de estos fármacos (fig. 17-11). La CsA y el FK506 forman complejos con distintas proteínas fijadoras específicas denominadas **inmunofilinas** (ciclofinila y proteína fijadora de FK, respectivamente), que por motivos desconocidos presentan actividad de peptidil-prolilisomerasa; estos complejos luego interactúan con la fosfatasa calcineurina A dependiente del calcio y calmodulina, e inhiben esta enzima responsable de la producción de factores de transcripción para IL-2, apoptosis y exocitosis en células T activadas. La transcripción de IL-10 no se ve afectada, lo que sugiere como consecuencia que se pase de las respuestas Th1 a Th2. Si bien la rapamicina también se une a la proteína fijadora de FK, el complejo posee una actividad biológica bastante diferente, dado que bloquea la activación inducida por IL-2 de la p70 S6 cinasa que fosforila la S6 ribosómica antes de la proliferación celular.

En la actualidad, la ciclosporina ocupa un lugar destacado en la defensa de primera línea, la profilaxis y el tratamiento del rechazo de trasplantes. En la figura 17-12 se muestra un ejemplo de su aplicación en el trasplante renal, pero también se evaluó para numerosos trastornos en los que se sospechan reacciones de hipersensibilidad mediada por células T. De hecho, se interpretó que los beneficios de la ci-

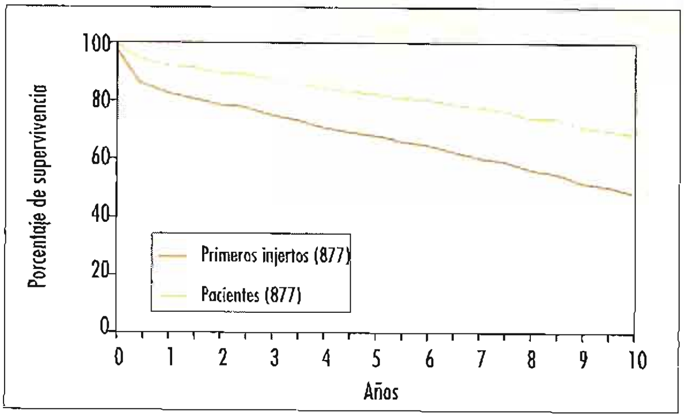


Fig. 17-12. Supervivencia actuarial de trasplantes de riñones cadavéricos primarios en 877 pacientes tratados en el Oxford Transplant Centre con terapéutica triple. **Ciclosporina**: 10 mg/kg/día por vía oral, administrada en una única dosis (la primera dosis antes de la cirugía), que se reducede de acuerdo con las concentraciones promedio en sangre entera (200-400 ng/mL en los primeros 3 meses y luego mantenida en 100-200 ng/mL). **Azatioprina**: 100 mg/día por vía oral; se reduce si el recuento de leucocitos es < 5.000. **Prednisolona**: 20 mg/día administrada en dosis fraccionadas por vía oral y reducida a una dosis de mantenimiento de 10 mg/día durante 6 meses. La dosis inicial se reduce a 15 mg/día en pacientes de menos de 60 kg de peso. En los pacientes con función renal estable, al cabo de un año se interrumpe la administración de prednisolona durante un período de algunos meses (datos gentilmente cedidos por el profesor Peter J. Morris).

closporina en enfermedades como síndrome nefrótico idiopático, diabetes insulinodependiente tipo 1, síndrome de Behçet, enfermedad de Crohn activa, anemia aplásica, asma severo dependiente de corticosteroides y psoriasis sugieren o confirman un papel patogénico para el sistema inume. Los efectos sobre las células dendríticas de Langerhans y sobre la proliferación de queratinocitos normales y transformados in vitro pueden contribuir para lograr resultados favorables en casos de psoriasis. En la terapéutica con ciclosporina son habituales el comienzo rápido de efectos beneficiosos y la aparición de recidivas cuando se interrumpe el tratamiento.

Es obvio que hay efectos secundarios. Se debe utilizar el agente en dosis inferiores a las que causan fibrosis renal, debido a la estimulación de la producción de TGFβ por diversos tipos celulares. También se debe tener en cuenta que la ciclosporina puede tornar a los pacientes susceptibles a linfomas inducidos por virus de Epstein-Barr (EBV), dado que el fármaco inhibe las células T que controlan la transformación in vitro de las células B por EBV; sin embargo, los últimos resultados sugieren que la incidencia de linfoma es bastante baja, en comparación con la informada para pacientes con aloinjertos tratados con inmunosupresores convencionales. Si bien no es un agente carcinogénico por sí solo, la ciclosporina puede favorecer la progresión de tumores, quizá por su efecto sobre TGFβ.

En condiciones in vitro y sobre base molar, FK506 es muy superior a CsA, pero no es mucho más eficaz cuando se usa en trasplantes renales; sin embargo, se podría explotar su tropismo hepático. Dado que actúan en diferentes estadios de la activación de las células T, CsA y rapamicina muestran un grado notable de sinergia, que permite utilizar ambos fármacos con niveles de dosis considerablemente menores y la consiguiente menor probabilidad de efectos secundarios (fig. 17-10). Otro acompañante sinérgico posible para la ciclosporina es la fludarabina, que a diferencia de la ciclosporina bloquea las señales mediante STAT-1, un intermediario intracelular activado por los interferones y de importancia para la inmunidad celular. Las terapéuticas combinadas también pueden incluir la azodicarbonamida, que bloquea el flujo de calcio asociado con la activación de CD3, y los fármacos ácido micofenólico y leflunomida, que limitan la disponibilidad de precursores de DNA.

Los esteroides como la prednisolona intervienen en muchos puntos de la respuesta inmune, por ejemplo, al afectar la recirculación linfocitaria y la generación de células efectoras citotóxicas; además, su notable poder antiinflamatorio se basa en propiedades como la inhibición de la adherencia de los neutrófilos al endotelio vascular en una zona de inflamación y la supresión de las funciones de monocitos/macrófagos referidas a la actividad antimicrobiana y la respuesta a citocinas. Los corticosteroides forman complejos con receptores intracelulares que luego se fijan a genes reguladores y bloquean la transcripción de TNF, IFNγ, IL-1, IL-2, IL-3, IL-6 y CMH clase II, es decir, bloquean la expresión de citocinas por linfocitos y macrófagos, mientras que la ciclosporina presenta su acción principal sobre los primeros.

Entre paréntesis, las inmunofilinas pueden intervenir en otras funciones celulares, por ejemplo, la regulación del subtipo *N*-metil-D-aspartato de los receptores neurales de glutamato y el aumento de la extensión de las prolongaciones neuronales por la proteína 43 asociada al crecimiento, lo que sugiere que FK506 podría utilizarse en el tratamiento clínico de pacientes con accidente cerebrovascular y en la terapéutica de la degeneración nerviosa. También se descubrió una relación estrecha entre FKBP12 y el receptor de superficie para el factor de crecimiento en transformación β (TGFβ). Con algo de buena suerte, estos fármacos podrían presentar inesperadas e interesantes vías de acción.

Estrategias para la depresión específica de antígeno de la reactividad contra el aloinjerto

Para evitar las desventajas de la inmunosupresión general es necesario anular sólo la reactividad del huésped contra los antígenos del injerto, y dejar intacto el resto del aparato inmune; en otras palabras, la inducción de la **tolerancia específica de antígeno**.

La médula ósea representa una fuente privilegiada de aloantígenos inductores de tolerancia y se demostró que la producción de quimerismo mixto linfohemapoyético estable por medio de trasplantes de médula ósea es un medio poderoso para inducir una fuerte tolerancia específica de trasplante de órganos sólidos, que supera las incompatibilidades principales por CMH. Sin embargo, el trasplante exitoso de médula ósea alogénica en adultos inmunocompetentes por lo general requiere tratamiento citoablativo de los receptores mediante irradiación o fármacos citotóxicos, lo que tiende a restringir su uso a las condiciones de malignidad. En un alentador estudio reciente se demostró la factibilidad de inducir tolerancia en el largo plazo no sólo en las células de médula ósea, sino en injertos cutáneos con incompatibilidad CMH total en receptores no sensibilizados que recibieron trasplante de médula ósea en dosis altas y bloqueo coestimulador mediante inyecciones únicas de anti-CD154 monoclonal (CD40L) más una proteína de fusión CTLA-4-Ig (fig. 17-13). Se logra un macroquimerismo hemopoyético persistente con una proporción significativa de linfocitos del tipo del donante en el timo, lo que indica eliminación intratímica de células T reactivas contra el donante.

Si bien este protocolo permite trasplantes en el largo plazo de médula ósea y órganos sólidos, en apariencia es suficiente el bloqueo directo con anti-CD154 y CTLA-4-Ig para inducir tolerancia contra injertos de órganos sólidos. La estimulación de células T alorreactivas por el injerto en presencia de bloqueo coestimulador produce apoptosis, un proceso estimulado por rapamicina que mejora el estado de tolerancia. Bcl-X_L (véase fig. 11-5, pág. 228) impide la apoptosis de las células T y la inducción de la tolerancia mediante este tratamiento, lo que destaca la importancia de la eliminación de las células T apoptósicas debido a la aparición de falta de respuesta específica de antígeno. Las células T apoptósicas "vuelven de la muerte" con la producción de IL-10, por lo que su fagocitosis con el antígeno lleva a la presentación del antígeno en una forma inductora de tolerancia que mantiene la tolerancia mediante la producción de células inmunorreguladoras.

A pesar del papel de la célula dendrítica *madura* como máximo estimulador de las células T en reposo, los *precursores* de las células dendríticas pueden presentar el antígeno en ausencia de coestimuladores B7, y mediante mecanismos similares a los ya descritos en los experimentos de bloqueo por coestimuladores, podrían tener grandes posibilidades para la inducción de la tolerancia. Este concepto es de particular importancia en los casos de falta de respuesta específica generada por trasplantes de hígado, que por ser un órgano hematopoyético exporta en forma continua grandes cantidades de estas células dendríticas inmaduras.

Los monoclonales anti-CD4 y anti-CD8 que no indican la depleción celular privan a las células T de señales plenamente activadoras, por lo que las pueden transformar en anérgicas cuando reciben antígenos a través de sus receptores específicos. Estas células anérgicas pueden inducir la falta de respuesta en células T recién reclutadas ("tolerancia infecciosa", pág. 262) y así establecer la aceptación es-

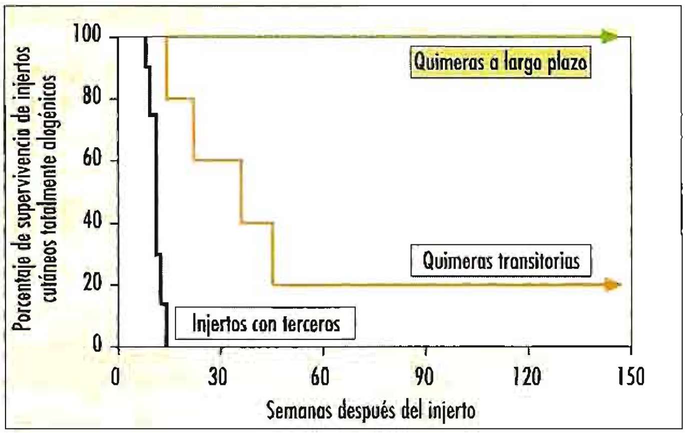


Fig. 17-13. Inducción de tolerancia y macroquimerismo a través del trasplante de médula ósea totalmente alogénica más bloqueo coestimulador. Ratones B6 recibieron células de médula ósea de la cepa B10.A totalmente alogénica, junto con inyecciones de anti-CD154 (CD40L) y la proteína de fusión CTLA-4-Ig que bloquea las interacciones B7-CD28 (CTLA es un receptor de células T para B7 que inhibe la activación de las células T; véanse págs. 165 y 170). Ocho ratones con persistencia de largo plazo de células del donante con multilinaje (macroquimerismo) mostraron tolerancia completa a los injertos cutáneos B10.A. Cinco ratones con quimerismo transitorio mostraron prolongación moderada de la supervivencia de los injertos cutáneos respecto de injertos con terceros no relacionados. (Datos obtenidos de Wekerle T. et al. (2000) *Nature Medicine* 6, 464, con autorización.)

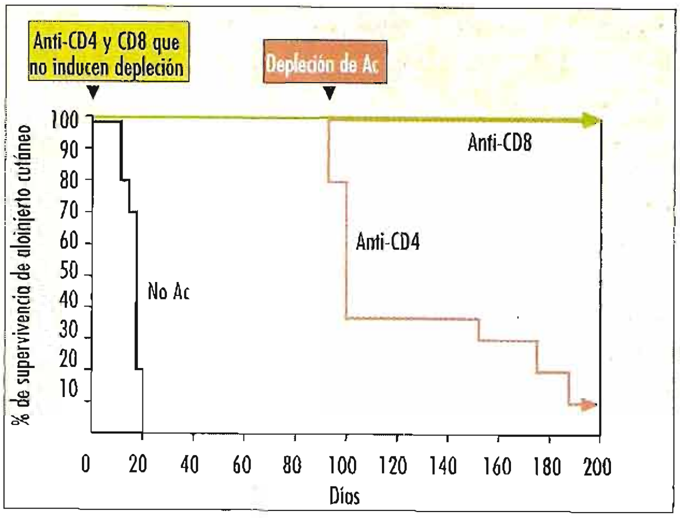


Fig. 17-14. Inducción de tolerancia a aloinjertos por anti-CD4 más anti-CD8 que no inducen la depleción celular. Se logró la tolerancia a injertos cutáneos proveniente de donantes con incompatibilidades menores múltiples de antígeno de trasplante mediante la inyección simultánea de anticuerpos monoclonales IgG2a contra CD4 y CD8, que no inducen la depleción celular (flecha verde). La persistencia de la tolerancia depende de la presencia continua de antígeno, que permite la interacción de la célula insensible con las células inmunocompetentes recién originadas sobre la superficie de las mismas células presentadoras de antígeno, y su transformación en insensibles, a través de un mecanismo de tolerancia a la infección (véanse figs. 12-9 y 20-24). Aún resta determinar si en el mecanismo interviene "anergia a la infección", supresión directa, "desviación inmune" de células Th1 con potencial agresivo por células Th2 supresoras, inhibición de la célula presentadora de antígeno, o las cuatro condiciones combinadas de diversas maneras. La pérdida de tolerancia por depleción de células CD4, pero no de CD8 (flechas rojas) demuestra que persiste la tolerancia activa por el subtipo CD4. (Fig. resumidas a partir de datos gentilmente cedidos por el doctor S.P. Cobbold y el profesor H. Waldmann.)

pecífica e indefinida de injertos cutáneos murinos a través de barreras clase I o de antígenos de trasplante múltiples menores (fig. 17-14). Cabe destacar que los aloinjertos cutáneos representan el desafío más difícil para la inducción de tolerancia, y los trasplantes de órganos como el corazón, menos exigentes que la piel, requieren una inmunoterapia menos agresiva.

Debido a la amplia variedad de distintos epítopos peptídicos presentados por el CMH del injerto, el ataque frontal sobre las células T alorreactivas debido a la administración de péptidos inductores de tolerancia representa todo un desafío, y la estrategia de utilizar bloqueo coestimulador con los antígenos proporcionados por el mismo injerto parece una vía más promisoria.

EL XENOINJERTO ¿ES UNA PROPUESTA PRÁCTICA?

Dado que la posibilidad de obtener órganos de donantes humanos destinados a trasplantes siempre es muy insuficiente para cubrir la demanda, hay un interés creciente y difuso interés en establecer la factibilidad de utilizar órganos de animales. Se prefieren los porcinos sobre los primates debido a la mayor aceptación desde el punto de vista ético y a los menores peligros de zoonosis. El primer obstáculo por superar es el **rechazo hiperagudo** debido a anticuerpos naturales xenorreactivos del huésped. Los seres humanos carecen de α-1,3-galactosiltransferasa y galactosa-α-1,3-galactosa, por lo que desarrollan anticuerpos contra este epítopo presente en muchas bacterias comunes, que se expresa en abundancia en el endotelio vascular xenogénico. Los anticuerpos naturales se fijan al endotelio y activan el complemento en ausencia de reguladores del sistema de complemento del ser humano, como factor acelerador de la degradación, CD59 y MCP (véase fig. 15-2), lo que precipita el fenómeno de rechazo hiperagudo. En la figura 17-15 hay un esquema de las nuevas estrategias de ingeniería genética diseñadas para resolver este problema.

La próxima crisis es el **rechazo vascular agudo** que tiene lugar dentro de los 6 días siguientes, a medida que los anticuerpos producidos por las células Th2 reaccionan con los xenoantígenos en el epitelio del donante. Al contrario de lo que sucede con la respuesta a los aloinjertos, en realidad IL-2 e IFNγ inhiben el rechazo vascular agudo, y durante un período prolongado IFNγ puede proteger el injerto al estimular la formación de NO· que impide la constricción de los vasos sanguíneos. Se evaluó la eficacia del brequinar sódico (fig. 17-10), un inhibidor de la biosíntesis de pirimidina y un supresor de las respuestas mediadas por células B y T, pero sin duda es preferible la inducción de la tolerancia, aunque cause inconvenientes.

Incluso cuando se superaron los problemas inmunitarios resta determinar si el xenoinjerto es compatible con la vida humana durante un período prolongado; son motivo obvio de preocupación los virus porcinos latentes.

INGENIERÍA DE TEJIDOS

El ideal sería crear el tejido para un **injerto completo a partir de células del receptor**; es decir, un autoinjerto, lo que eliminaría la necesidad de la inmunosupresión. Es posible, aunque parezca ciencia-ficción. Es constante la acumulación de conoci-

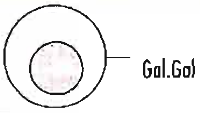
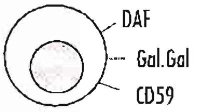
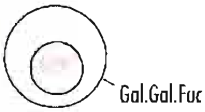
Manipulación genética de cerdo	Injerto	+ anti-Gal natural humano + C′	Rechazo hiperagudo
–	 Gal.Gal	→	++
Hecho transgénico para DAF o CD59 humano	 DAF Gal.Gal CD59	→	–
Células transfectadas con α-1,2-fucosiltransferasa	 Gal.Gal.Fuc	→	–

Fig. 17-15. Estrategias para evitar el rechazo hiperagudo de un xenoinjerto, mediado por complemento, causado por la reacción de anticuerpos naturales anti-galactosa con Galα-1,3-Gal en la superficie de las células de injerto porcino. Los xenoinjertos cardíacos de cerdos transgénicos que expresan el factor acelerador de degradación de las proteínas reguladoras del complemento humano (DAF) o CD59 funcionaron durante períodos prolongados en babuinos. La transfección de células porcinas con α-1,2-fucosiltransferasa convirtió los azúcares terminales en el grupo sanguíneo H y transformó las células en resistentes a la lisis por la antigalactasa. Otras estrategias comprenden la transfección con genes codificadores de una α-galactosidasa o la reacción intracelular de scFv recombinante con una α-1,3-galactosiltransferasa.

mientos referidos a los diversos factores de crecimiento requeridos para guiar las células madre relativamente indiferenciadas hacia la forma madura buscada, bajo condiciones de cultivo in vitro. En muchos casos se demostró la posibilidad de aislar células madre de diversos órganos adultos, pero el desarrollo más destacado proviene de la clonación de la oveja Dolly. Se reveló así la factibilidad de separar el núcleo de una célula adulta diferenciada y reprogramarla en un estado embrionario que responda a los factores de crecimiento tempranos, que se pueden seleccionar para así determinar su futuro destino como célula de los islotes, cerebrales o hepáticas, o de cualquier otro tipo (fig. 17-16).

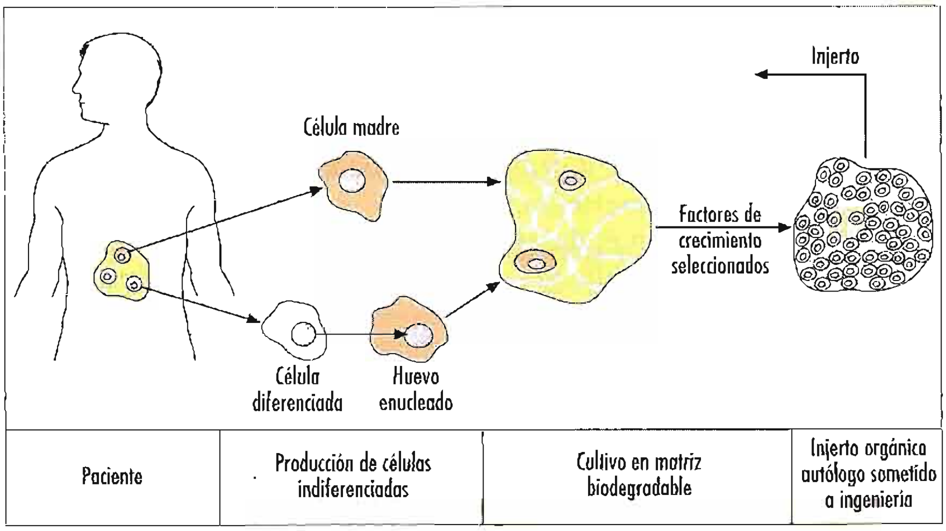

Injerto
Célula madre
Factores de crecimiento seleccionados
Célula diferenciada
Huevo enucleado
Paciente
Producción de células indiferenciadas
Cultivo en matriz biodegradable
Injerto orgánico autólogo sometido a ingeniería

Fig. 17-16. Producción anticipada de injertos autólogos mediante ingeniería de tejidos. Se obtienen células indiferenciadas directamente del paciente como células madre (de ser posible) o mediante el trasplante de los núcleos de células maduras en células embrionarias enucleadas. Luego se cultivan las células en una matriz biodegradable, con los factores de crecimiento adecuados, para obtener un tejido poblado por células diferenciadas que pueden actuar como un injerto autólogo.

EXPERIENCIA CLÍNICA EN TRASPLANTES

Sitios privilegiados

Los injertos de **córnea** sobreviven sin necesidad de inmunosupresión. Dado que son avasculares tienden a no sensibilizar al receptor. Esta protección privilegiada es incentivada por la producción local de factores inunosupresores, como TGFβ, IL-1Ra, la expresión limitada de CMH y la presencia estratégica de FasL capaz de inducir la apoptosis en linfocitos infiltrados. Sin embargo, se tornan opacos si el individuo está *presensibilizado*. Los injertos de **cartílago** presentan un resultado similar, pero con el factor protector adicional conferida a los condrocitos por la matriz. En los casos de huesos y arterias en realidad no tiene importancia si el injerto muere, pues aun así proporciona el marco que colonizan las células del huésped.

Trasplantes de riñón

Se trasplantaron miles de riñones, y, con los adelantos en el manejo de los pacientes, se logra una tasa elevada de supervivencia. En el largo plazo (5 años o más) se aprecia la ventaja de la razonable compatibilidad en los loci HLA-A, HLA-B y HLA-D (fig. 17-17).

Los pacientes están inmunosuprimidos en parte en el momento del trasplante, dado que la uremia produce cierto grado de anergia inmunitaria. Se solía emplear la combinación de azatioprina y prednisolona para el manejo en el largo plazo de los trasplantes renales, pero en la actualidad se complementa con ciclosporina A en la denominada **terapéutica triple** (fig. 17-12). Cabe esperar que la sinergia entre la ciclosporina y la rapamicina, y quizás otros inmunosupresores, permitirá la aparición de poderosos regímenes terapéuticos nuevos. Si la función renal está deteriorada, durante una crisis de rechazo se puede aplicar diálisis renal. Como ya se vio, hay activo interés en la posibilidad de los xenoinjertos. Cuando se lleva a cabo el trasplante debido a una glomerulonefritis inducida por complejos inmunes, el tratamiento inmunosupresor utilizado puede contribuir para prevenir el desarrollo de una lesión similar en el riñón injertado. Los pacientes con anticuerpos contra la membrana basal glomerular (p. ej., en el síndrome de Goodpasture) pueden destruir los trasplantes renales, a menos que se los trate antes mediante plasmaféresis y con fármacos inmunosupresores.

Trasplantes de corazón

La cifra global de supervivencia a un año para los trasplantes cardíacos se desplazó hasta casi alcanzar el 80% (fig. 17-18), con incremento considerable debido a la introducción del tratamiento con ciclosporina A. Tiene la desventaja de su nefrotoxicidad, si bien el análogo ciclosporina G es mejor en ese aspecto, y la terapéutica sinérgica combinada con rapamicina debería disminuir en grado notable este efecto secundario. Es obvia la escasa probabilidad de compatibilidad HLA total, pero incompatibilidades DR aisladas aportaron un 90% de supervivencia a los 3 años, en comparación con cifras del 65% para dos incompatibilidades DR. Además del problema del rechazo, es probable que la cantidad

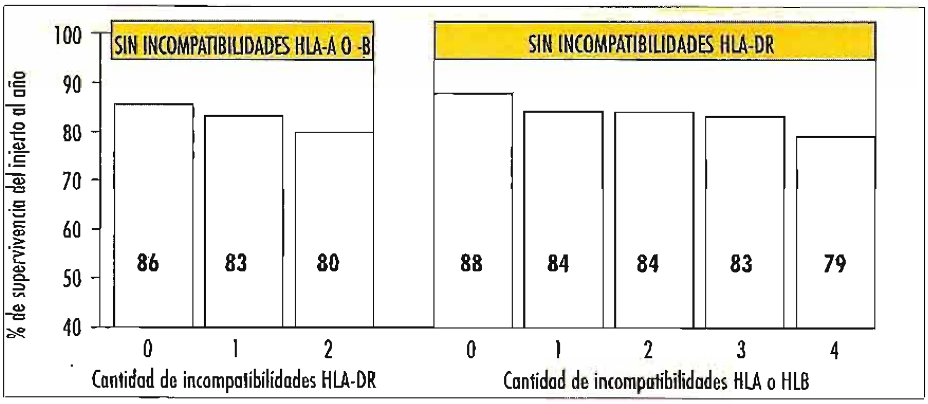


Fig. 17-17. Supervivencia de primer injerto de riñón cadavérico en Europa en el período transcurrido entre enero de 1993 y diciembre de 1997 (n = 12.584) sobre la base de incompatibilidades de HLA-A, HLA-B y HLA-DR. Se observa una significativa influencia de la compatibilidad, $p < 0,001$ para ambos conjuntos de datos. (Información proporcionada gentilmente por los doctores Guido Persijn y Jacqueline Smits, de la Eurotransplant International Foundation.)

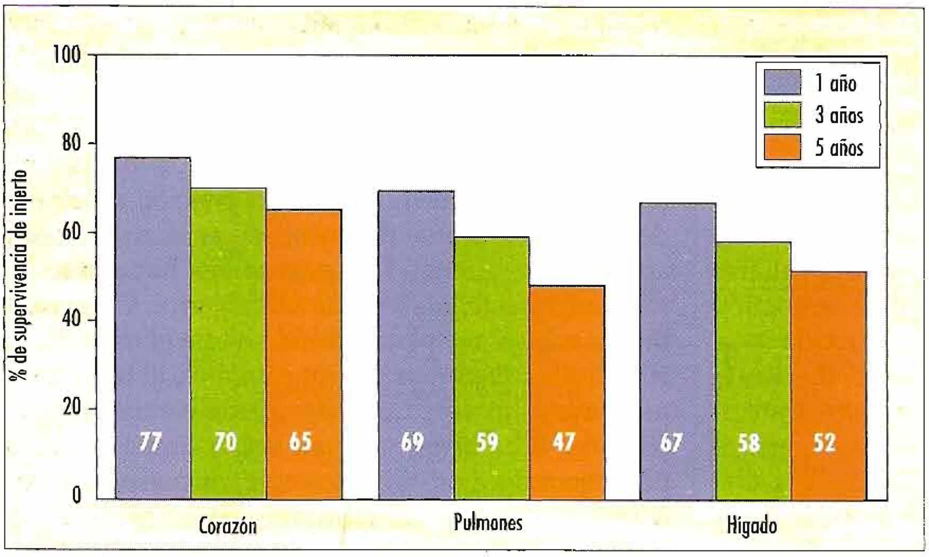


Fig. 17-18. Tasas de supervivencia de primeros injertos de corazón, hígado y pulmones en Eurotransplant, realizados entre enero de 1992 y diciembre de 1993. (Datos gentilmente cedidos por los doctores Guido Persijn y Jacqueline Smits, de la Eurotransplant Internacional Foundation.)

de pacientes que podrían beneficiarse de un reemplazo cardíaco es mucho mayor que la cantidad de personas que mueren con corazones en condiciones de salud adecuadas. Es necesario prestar más atención a la posibilidad de obtener injertos xenogénicos y sustitutos mecánicos.

Otro tema importante: la respuesta inmune a los vectores adenovirales puede inducir inflamación y pérdida de expresión genética en tejidos transfectados, salvo en isoinjertos cardíacos que permanecen libres de inflamación. Esto sugiere una vía nueva para introducir un inmunosupresor como TGFβ, que se puede producir en concentraciones elevadas dentro del medio del trasplante cardíaco sin invocar efectos secundarios sistémicos.

Trasplantes de hígado

Las tasas de supervivencia de los injertos hepáticos ortotópicos no son tan elevadas como las obtenidas con los trasplantes cardíacos (fig. 17-18). La capacidad hepatotrófica de FK506 es una bonificación adicional que la transforma en el fármaco de elección para los trasplantes hepáticos. Las crisis de rechazo se manejan con dosis elevadas de esteroides y, de ser ineficaces, con globulina antilinfocitaria. El uso de una solución de hidroxietilalmidón coloidal totalmente sintética que contiene lactobionato como sustituto de cloruro permite mantener el hígado durante más de 24 horas, y revolucionó la logística de los trasplantes hepáticos. Para mejorar el pronóstico de los pacientes con neoplasias hepáticas primarias o de los conductos biliares, antes considerados inoperables, se diseñaron trasplantes de grupos de órganos con el hígado en la ubicación central, por ejemplo, de hígado y páncreas, o de hígado, páncreas, estómago e intestino delgado, o incluso de colon. Sin embargo, el resultado no es muy favorable, pues hasta el 75% de los pacientes receptores por cáncer hepático presentan recurrencia del tumor dentro del período de un año. En el futuro se espera poder crear hígados autólogos a partir de células adultas, cuando se hayan logrado desarrollar lo suficiente las técnicas de ingeniería de tejido.

La experiencia con trasplantes hepáticos entre cerdos reveló un descubrimiento interesante. Muchos de los animales mantenían los órganos injertados en estado de salud durante muchos meses sin forma alguna de inmunosupresión, y presentaba insensibilidad a los injertos cutáneos o renales provenientes del mismo donante. La tolerancia verdadera es inducida por las células madre hematopoyéticas intrahepáticas y las células dendríticas del tipo del donante (véase antes) y quizá también por el parénquima hepático, pues se sabe que produce grandes cantidades de CMH soluble clase I.

En la actualidad se llevan a cabo trabajos relacionados con la transferencia de hepatocitos aislados, adosados a microtransportadores recubiertos por colágeno e inyectados por vía intraperitoneal con el objeto de corregir deficiencias aisladas, como la síntesis de albúmina. Este abordaje interesante tiene aplicaciones mucho más amplias como vehículo general para la terapia génica.

Trasplante de médula ósea

Los pacientes que padecen ciertos trastornos por inmunodeficiencia y anemia aplásica son candidatos obvios para el tratamiento con **células**

madre de médula ósea, por su potencial para diferenciarse en todos los elementos figurados de la sangre; lo mismo ocurre con los pacientes con leucemia aguda tratados en forma radical con quimioterapia intensiva y, en algunos casos, con irradiación de cuerpo entero para intentar erradicar las células neoplásicas, como se verá en el próximo capítulo.

La médula ósea no sólo contiene células madre hematopoyéticas, sino también mesenquimáticas, que pueden originar cartílagos, tendones y hueso; tras la expansión en cultivos por un factor de 5-10, proporcionan un tratamiento excelente para niños con osteogénesis imperfecta, un trastorno genético en el que los osteoblastos producen colágeno tipo I defectuoso, lo que causa osteopenia y deformidades óseas severas. Se obtuvieron buenos resultados mediante el trasplante *in utero* de células madre, en los casos de trastornos sanguíneos hereditarios, mediante poblaciones obtenidas de médula ósea de los progenitories y enriquecida con el marcador de células madre CD34. Desde un punto de vista práctico se observó que la sangre de cordón contiene células madre hemopoyéticas suficientes para el reemplazo de médula ósea, pero que es aun más conveniente incrementar la cantidad de células progenitoras positivas para CD34 en volúmenes relativamente pequeños de sangre periférica mediante factor de células madre recombinante, IL-1β, IL-3, IL-6 y eritropoyetina en presencia de células del estroma o monocapas de fibronectina *ex vivo*, antes del trasplante. También es alentador observar que los factores estimuladores de colonias G-CSF y GM-CSF aceleran en grado notable el retorno de las células mieloides tras la aplicación de dosis letales de agentes mielotóxicos, antes del trasplante autólogo de médula ósea; hay menos infecciones, menor necesidad de anticuerpos por vía intravenosa y el paciente abandona antes el hospital. Además aceleran la incorporación del injerto de médula ósea alogénica sin exacerbar la enfermedad i.v.h.

La enfermedad injerto versus huésped es un problema importante en el trasplante de médula ósea

La enfermedad injerto versus huésped, que tiene lugar debido al reconocimiento de los antígenos del receptor por las células T alogénicas en el inóculo de médula ósea, representa una complicación severa y en ocasiones fatal, y su incidencia disminuye si primero se eliminan las células T de la médula trasplantada mediante el agregado de una mezcla citotóxica de monoclonales anticélulas T. Un resultado inesperado fue que la eliminación total de las células T causa un aumento alarmante de la incidencia de fracasos de trasplante, en apariencia debido a la pérdida de células facilitadoras bastante raras que expresan TCR, CD3, CD8 y una glucoproteína de superficie celular de 33 kDA antes desconocida, FCp33. Es obvio que se desconoce la forma de acción de éstas y otras células facilitadoras, por ejemplo, las dendríticas CD8$^+$.

Es de esperar que se logren trasplantes exitosos y se evite la enfermedad clínica i. V. H. en un futuro no muy distante, mediante estrategias como las que utilizan trasplantes de médulas alogénicas con bloqueo coestimulador y sin tratamiento citoablativo del injerto o el huésped, como ya se describió (fig. 17-13). Hasta entonces son más probables los éxitos con donantes muy compatibles, en particular si se busca evitar la enfermedad injerto fatal, y en estos casos los hermanos ofrecen mayores probabilidades de hallar un donante compatible (fig. 17-9). Sin duda tienen importancia los antígenos de trasplante menores no HLA, que son más difíciles de compatibilizar. La enfermedad i.v.h. que se produce dentro de los 100 días posteriores a la infusión de médula alogénica afecta sobre todo la piel, el hígado y el tracto gastrointestinal. Los anticuerpos contra TNF o IL-1R bloquean la mortalidad. La terapéutica actual utiliza ciclosporina con prednisolona, pero algunos autores opinan que la inclusión de metotrexato en este régimen mejora la eficacia. La enfermedad i.v.h. crónica (es decir, de aparición posterior a los 100 días) tiene un pronóstico bastante bueno si se limita a la piel y el hígado, pero es malo si afecta muchos órganos y se asemeja a una esclerosis sistémica progresiva por los hallazgos clínicos. Se trata a los pacientes con ciclosporina y prednisolona, pero en época reciente se observaron efectos favorables de la talidomida, debido a su acción anti-TNF. La patogenia no es directa y se puede producir enfermedad crónica debido a un mecanismo curioso en el que intervienen células T autorreactivas que se filtran y no se eliminan en el timo, quizás a causa del daño de esta glándula producido por el tratamiento previo o posterior al trasplante, por ejemplo, una infección viral asociada, la radioterapia o incluso la ciclosporina. Puede ser significativa la observación de que la ciclosporina inhibe la muerte celular programada de los timocitos inmaduros que tiene lugar por la activación con anti-CD3, y se sabe que la reacción i.v.h. puede aparecer al interrumpirse una administración prolongada de ciclosporina a ratas jóvenes irradiadas que recibieron médula ósea singénica.

Otros órganos

Es de esperar que los adelantos en las técnicas de control del proceso de rechazo alentarán los trasplantes en varias otras áreas, aunque no en casos de trastornos endocrinos como la enfermedad de Hashimoto (véase pág. 454), en los que es conveniente el tratamiento de reemplazo exógeno, sino, por ejemplo en diabetes, donde la cantidad de trasplantes registrados se incrementa con rapidez, y la tasa actual de buenos resultados ronda el 40%; de todos modos, los inconvenientes principales aún son la producción inadecuada de insulina en los islotes trasplantados y la necesidad de obtener un tejido aceptable. Se lograron adelantos considerables en lo referido a expandir la cantidad de células de los islotes derivados de precursores de los conductos pancreáticos, si bien los islotes de simio podrían ser una posibilidad interesante, por tener bajos niveles de CMH de superficie y no estar vascularizados, lo que evita la presentación del peligroso epítopo Gal.Gal (véase pág. 413) enriquecido en el endotelio vascular de algunas especies marcadas. La transfección in vivo de hepatocitos mediante un vector adenoviral que codifica la homeoproteína PDX-1, un transactivador del gen de insulina dependiente de glucosa, induce en las células la elaboración de insulina en ratones diabéticos; esto es muy impresionante, y representa una posibilidad interesante, pero aún se encuentra en las etapas iniciales. La tasa de supervivencia del 47% en los trasplantes de pulmón al cabo de 5 años, si bien presenta mejorías, está lejos de ser satisfactoria. También se vislumbra la posibilidad de que un día sean habituales los trasplantes exitosos de piel en casos de quemaduras letales.

Se presentaron informes referidos a experimentos que se llevan a cabo con injertos de **tejidos neurales**. Se observó que ratones mutantes con células de Purkinje cerebelares degeneradas, una patología similar a la ataxia cerebelar humana, se pueden restablecer mediante injertos con células cerebelares de donante en los sitios adecuados; estas células expresan factor de crecimiento similar a insulina 1 (IGF-1), migran para formar una capa en lugar de las células faltantes, inducen la generación de brotes en las neuronas del huésped y se integran mediante sinapsis. Los estudios clínicos con trasplantes de neuronas dopaminérgicas embrionarias humanas destinadas a revertir el déficit neurológico en la enfermedad de Parkinson, se vieron muy limitados debido a la muerte excesiva de las células injertadas. La hipótesis que postula causas relacionadas con estrés oxidativo indujo a llevar a cabo un estudio para demostrar que las neuronas injertadas, provenientes de ratones transgénicos que expresaban superóxido de Cu/Zn dismutasa (véase pág. 6) presentaban una tasa de supervivencia muy aumentada. Otra posibilidad es la corea de Huntington, que se rastreó hasta una mutación productora de una proteína con una repetición polimorfa de glutamina expandida que es tóxica para las neuronas estriadas espinales. Los aloinjertos estriados embrionarios productores de la proteína no tóxica de tipo salvaje sobreviven durante un período prolongado, se integran en el encéfalo del huésped e inducen el alivio funcional de los déficit motores, todo en ausencia de inmunosupresión. Hasta el presente los estudios se limitaron por la necesidad de utilizar tejidos embrionarios, pero la detección reciente de células precursoras neurogénicas en el hipocampo humano adulto podría ser el inicio de la Tierra Prometida.

La criopreservación de esperma es una estrategia exitosa para el manejo de los pacientes adultos con cáncer, con el fin de proteger los espermatozoides del tratamiento mutagénico del tumor. No se aplica a varones prepúberes, pero una alternativa sería la criopreservación de células madre de las espermatogonias para su reincorporación tras el tratamiento, dado que las células de Sertoli que sostienen la diferenciación en espermotozoides maduros funcionan con normalidad. A medida que se acumula el conocimiento sobre la secuencia del genoma humano existe la posibilidad de identificar y corregir defectos genéticos de las espermatogonias antes de reintroducirlas, pero las comisiones de ética luchan contra estas manipulaciones de tipo "Frankenstein". En los casos de infertilidad masculina por células de Sertoli disfuncionales sería más aceptable la posibilidad de desarrollar espermátides maduras mediante el cultivo de espermatogonias con células de Sertoli derivadas de un individuo normal.

Los estudios avanzan con rapidez para producir injertos vasculares protésicos exitosos que puedan permanecer permeables como los conductos sanguíneos, impedir la trombosis de la sangre con los flujos lentos o los estados adversos y controlar la hiperplasia celular anastomótica con crecimiento excesivo de células musculares lisas y producción de matriz. Es difícil de lograr, pero hay intentos alentadores tendientes a elaborar un injerto vascular compuesto, en el que las células endoteliales de los microvasos, presentes en una muestra pequeña de grasa subcutánea de la pared abdominal obtenida por la técnica cosmética relativamente simple de liposucción, crece como una capa endotelial antitrombótica para revestir la superficie de un tubo expandido de politetrafluoroetileno. Se esperan desarrollos en este campo, en particular para el reemplazo de arterias.

ASOCIACIÓN DEL TIPO DE HLA CON LA ENFERMEDAD

Desequilibrio de enlace y susceptibilidad a la enfermedad

Se acumuló un cuerpo impresionante de datos que enlazan HLA específicos con estados patológicos particulares en seres humanos (cuadro 17-1) y relaciones aun más notables pueden aparecer a medida que se descubra la complejidad de la región de HLA-D. Estas relaciones se ven afectadas por un **desequilibrio de enlace**, un estado en el que los genes en estrecha conjunción sobre un cromosoma tienden a permanecer asociados en lugar de sufrir aleatorización genética en una población dada, por lo que la frecuencia de aparición conjunta de un par de alelos es mayor que el producto de las frecuencias de cada uno de los genes (fig. 17-19a). Esto podría ser consecuencia de que la selección natural favorezca un haplotipo particular o de que no haya transcurrido tiempo suficiente desde la primera aparición de alelos ubicados muy cerca para permitir la distribución aleatoria en toda la población. Cualquiera sea la razón, una asociación significativa entre una patología y determinada especificidad de HLA no implica que se haya descubierto el gen de susceptibilidad para la enfermedad, dado que se podría hallar una correlación aun mayor con otro gen HLA en desquilibrio de enlace con el primero. Por ejemplo, en la esclerosis múltiple se estableció primero una asociación con el alelo B7, pero cuando se analizaron los pacientes para tipificar el locus D emergió una correlación mucho más fuerte con DR2 (fig. 17-19b). La correlación inicial con B7 era consecuencia del desequilibrio de enlace entre B7 y DR2. Aún no se tiene certeza de que DR2 sea el gen de susceptibilidad a la enfermedad, dado que para proseguir con el análisis no se puede excluir la posibilidad de hallar una asociación aun mayor con otro gen estrechamente relacionado, y de hecho, en estudios recientes se reveló una relación incluso superior con DQB1*0602. Sin embargo, en los casos en que dos genes de susceptibilidad codifiquen cadenas α y β sinérgicas, y se encuentren en la configuración *trans* (es decir, sobre distintos cromosomas), es menos probable que la explicación radique en el desequilibrio de enlace.

Cuadro 17-1. *Asociación de HLA con la enfermedad. (Datos en su mayoría provistos por Ryder et al, véase epígrafe de fig. 17-19, y* Thorsby E. (1995) The Immunologist 3, 51.)

ENFERMEDAD	ALELO HLA	RIESGO RELATIVO
a/ Clase II asociada		
Enfermedad de Hashimoto	DR11	3,2
Mixedema primario	DR17(*3)	5,7
Tirotoxicosis (de Graves)	DR17(*3)	3,7
Diabetes insulinodependiente	DQ8	14
	DQ2/8	20
	DQ6	0,2
Enfermedad de Addison (suprarrenal)	DR17(*3)	6,3
Síndrome de Goodpasture	*DR2	13,1
Artritis reumatoidea	DR4	5,8
Artritis reumatoidea juvenil	DR8	8,1
Síndrome de Sjögren	DR17(*3)	9,7
Hepatitis crónica activa (autoinmune)	DR17(*3)	13,9
Esclerosis múltiple	*DR2, *DQ6	12
Narcolepsia	DQ6	38
Dermatitis herpetiforme	DR17(*3)	56,4
Enfermedad celíaca	DQ2	250
Lepra tuberculoide	*DR2	8,1
b/ Clase I, asociado con HLA-B27		
Espondilitis anquilosante	B27	87,4
Enfermedad de Reiter	B27	37,0
Artritis pos salmonella	B27	29,7
Artritis postshigella	B27	20,7
Artritis posyersinia	B27	17,6
Artritis posgonocócica	B27	14,0
Uveítis	B27	14,6
Amiloidosis en artritis reumatoidea	B27	8,2
c/ Otras asociaciones clase I		
Tiroiditis subaguda	B35	13,7
Psoriasis vulgar	Cw6	13,3
Hemocromatosis idiopática	A3	8,2
Miastenia gravis	B8	4,4

Las especificidades *DR se relacionan con la "vieja nomenclatura", figura 17-9.

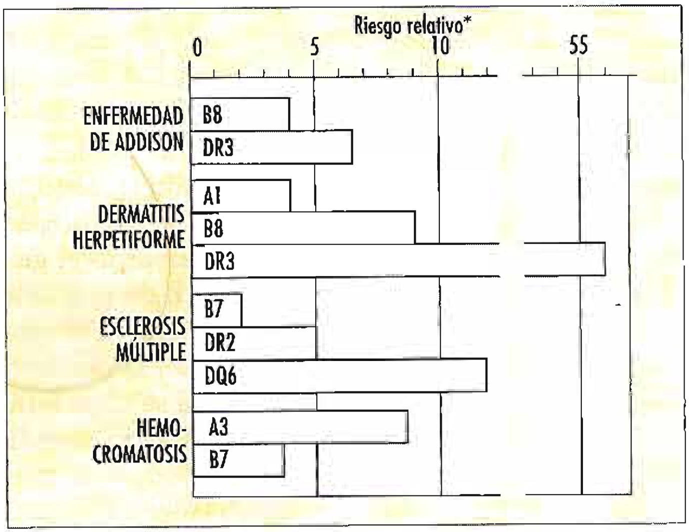
Estudios étnicos pueden contribuir a tornar disponibles los procesos de recombinación que alteran los haplotipos y permiten la identificación de los determinantes de susceptibilidad fuera del contexto normal. Así, el DQα (DQA1*0201) unido a DR7 sobre el haplotipo caucásico tiene un efecto neutro sobre la susceptibilidad a la diabetes, pero en la población negra se asocia DR7 con un DQα de alto riesgo (DQA1*0301) y ahora se transforma en un haplotipo de susceptibilidad.

Asociación con enfermedades inmunes

Con algunas excepciones, como la hemocromatosis idiopática y la hiperplasia suprarrenal congé-

GENES HLA	% DE FRECUENCIA DE GENES GEN ÚNICO	GENES APAREADOS ESPERADOS	OBSERVADOS
A1	16	1,6	8,8
B8	10		
A3	13	1,3	2,8
B7	10		

a



b

Fig. 17-19. Desequilibrio de enlace y la asociación entre HLA y la enfermedad. a) Dos ejemplos de desequilibrio de enlace. La frecuencia esperada para un par de genes es el producto de la frecuencia de cada gen aislado. B8 y DR3 (nomenclatura vieja; fig. 17-9) tienen desequilibrio de enlace, al igual que B7 y DR2 (nomenclatura vieja); en consecuencia, los haplotipos A1, B8, DR3 y A3, B7 DR2 son relativamente comunes. **b)** Influencia del desequilibrio de enlace sobre la asociación con la enfermedad. *Riesgo relativo = el aumento de probabilidad de contraer la enfermedad para individuos portadores de antígeno, respecto de los que carecen de él. (Datos de Ryder L.P., Andersen E & Svejgaard A. (1979) HLA and Disease Registry 1979. Tissue Antigens suplemento.)

nita consecuencia de una deficiencia de 21-hidroxilasa, que sólo ingresan en este grupo exclusivo por el desequilibrio de enlace, las patologías relacionadas con HLA están íntimamente ligadas con los procesos inmunitarios. En general, los trastornos relacionados con HLA-D son autoinmunes, con tendencia por parte de los genes *DR3* o similares de asociarse con patologías específicas de órgano. Se sugirió que los HLA podrían afectar la susceptibilidad de una célula respecto de la adherencia o la infección viral, por lo que influiría sobre el desarrollo de autoinmunidad para componentes de superficie asociados. Sin embargo, dado que los genes de clase II tienden a dominar en estas relaciones, es tentador pensar en términos de genes de respuesta inmune que controlan la naturaleza de la reacción frente al autoantígeno importante o a cualquier agente causal, quizá por medio de una capacidad para fijar ciertos péptidos antigénicos. Determinado alelo HLA-D puede permitir la fijación de péptidos extraños y reacciones cruzadas con epítopos propios, o puede contribuir con el epítopo propio, dado que las moléculas de CMH *procesadas* aparecen en abundancia sobre la superficie celular. La tecnología moderna de tetrámero CMH-péptido (véase 153) o los reactivos alternativos péptido/-dímero Ig-CMH deberían ser útiles para detectar células T sensibilizadas en estos pacientes y rastrear la identidad de los epítopos relevantes; seguirían las aplicaciones diagnósticas.

La **diabetes mellitus insulinodependiente** se asocia con DQ8 (DQA1*0301, DQB1*0302) y DQ2 (DQA1*0501, DQB1*0201), pero la susceptibilidad más firme se observa en el **heterocigoto DQ2/8**, lo que alega en favor de la función de las moléculas DQ codificadas *trans* en estos individuos, muy probablemente DQ(α1*0301, β1*0201). La necesidad de dos genes para determinar la susceptibilidad más fuerte, y la universalidad de este hallazgo en todas las poblaciones estudiadas implica que las moléculas DQ, y no otras moléculas del desequilibrio de enlace, intervengan en principio en la susceptibilidad a la enfermedad. La posesión de algunos subtipos de DQ6 genera un efecto protector dominante (cuadro 17-1; riesgo relativo 0,2). En consecuencia, el grado de predisposición asociada con HLA a diabetes tipo 1 será un compendio de los efectos de la combinación particular de moléculas DQ codificadas en *cis* y *trans*. En el nivel molecular, distintos aminoácidos polimorfos en los residuos DQα52 y DQβ57 tienen influencia poderosa sobre la susceptibilidad a la enfermedad.

En caucásicos blancos, los factores de riesgo para **artritis reumatoidea** son DR4 y, en menor grado, DR1. El análisis de los subgrupos DR4 y de otras poblaciones étnicas en las que la influencia de DR4 es mínima permitió identificar como elemento de susceptibilidad a la enfermedad una secuencia lineal particular de las células T entre los residuos 67-74, y las variaciones observadas se basan sobre la capacidad de compartir esta secuencia con otras especificidades HLA-DR, que se supone tuvieron su origen en procesos de recombinación y conversión de los genes responsables del polimorfismo CMH (cuadro 17-2). Esta sección de aminoácidos es muy polimorfa y forma los bolsillos 4 y 7 del surco fijador de péptidos. Hay diferencias notables entre los conjuntos de péptidos unidos por los subtipos DR asociados o no con artritis reumatoidea; cabe destacar que las diferencias incluyen la carga de los aminoácidos en los residuos 4 o 5 de la secuencia peptídica unida a la hendidura. El análisis de los péptidos unidos en forma espontánea con las moléculas DR de los pacientes podría representar una clave importante para la patogenia. Al igual que en la diabetes, el alelo DR2 está subrepresentado, y los pacientes positivos para DR2 presentan una enfermedad menos severa, lo que implica que un gen ligado a DR2 podría conferir cierta protección (quizás por medio de inetracciones con la proteína del shock térmico).

En la **espondilitis anquilosante** la asociación con HLA es muy notable; hasta el 95% de los pacientes tiene fenotipo B27, en comparación con el 5% de los controles. La incidencia de B27 también presenta una elevación marcada en otras condiciones cuando se acompaña de sacroileítis, por ejemplo, enfermedad de Reiter, uveítis anterior aguda, psoriasis y otras formas de sacroileítis infecciosa, como las artritis por *Yersinia*, gonococo y *Salmonella*. La asociación muy cercana con B27 y el desarrollo de una enfermedad bastante similar en roedores transformados en transgénicos para el gen *B57* avalan a la molécula B57 como factor patógeno principal. Hay nueve subtipos de B57 codificados por los alelos B*2701-2708, todos asociados con espondilitis anquilosante y con un bolsillo "B" en la hendidura, que es muy exclusivo respecto de la fijación de la cadena lateral de arginina. Se debería buscar un nonapéptido con una arginina en el residuo 2. El compromiso de los agentes infecciosos puede proporcionar una clave. En este sentido se destaca la reacción cruzada de B27 con *Klebsiella pneumoniae* nitrogenasa informada por Ebringer y col. Es sugerente que el péptido bacteriano puede formar reacciones cruzadas con una secuencia derivada de B27 y provocar una respuesta autorreactiva de las células T.

Las deficiencias en C4 y C2, que son moléculas CMH clase III, predisponen con claridad al desarrollo de **enfermedad por complejos inmunes** (véase pág. 349), por lo que cabría esperar que la herencia de genes o alelos nulos codificadores de los alotipos de complemento menos activos incrementaría el riesgo de trastornos reumáticos y agregaría todavía mayor compejidad a las correlaciones entre los tipos HLA y la enfermedad.

Por último, cabe destacar que la relación entre CMH y resistencia a la enfermedad y eficacia de vacunas comienza a preocupar a los científicos veterinarios; por ejemplo, se sabe que la susceptibilidad a la enfermedad de Marek en gallinas White Leghorn se asocia con haplotipos CMH diferenciados.

INMUNOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN

El feto como aloinjerto en potencia

Otra consecuencia del polimorfismo en una población exogámica es que la madre y el feto casi con certeza tendrán distintos CMH. Algunos ejemplos de selección de heterocigotos (donde los haplotipos derivados de la madre y el padre son diferentes) sobre homocigóticos (ambos haplotipos fetales idénticos a los de la madre) en animales vivíparos sugieren que esto es beneficioso. De modo similar, las

Cuadro 17-2. *Las secuencias compartidas en la hélice α DRβ1 en distintos haplotipos confieren susceptibilidad a artritis reumatoidea. (Datos de Bell J.I. & McMichael A.J. (1993) En Lachmann P.J., Peters D.K., Rosen F.S. & Walport M.J. (eds).* Clinical Aspects of Immunology. *Pág. 748. Blackwell Scientific Publications, Oxford.)*

	ESPECIFICIDAD HLA-DR	Gen DRβ1	RESTOS HLA-DRβ EN TERCERA REGIÓN ALÉLICA HIPERVARIABLE									
			66				70				74	
Susceptible a AR	DR1	*0101	Asp	Leu	Leu	Glu	Gln	Arg	Arg	Ala	Ala	Val
	DR4	*0404	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	DR4	*0405	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	DR4	*0401	–	–	–	–	–	Lys	–	–	–	–
	DR10	*1001	–	–	–	–	Arg	–	–	–	–	–
No susceptible a AR	DR4	*0402	–	Ile	–	–	Asp	Glu	–	–	–	–
	DR4	*0407	–	–	–	–	–	–	–	–	Glu	–
	DR7	*0701	–	Ile	–	–	Asp	–	–	Gly	Gln	–
Secuencias de nucleótidos	DR1	*0101	GAC	CTC	CTG	GAG	CAG	AGG	CGG	GCC	GCG	GTG
	DR4	*0401	---	---	---	---	---	-A-	---	---	---	---

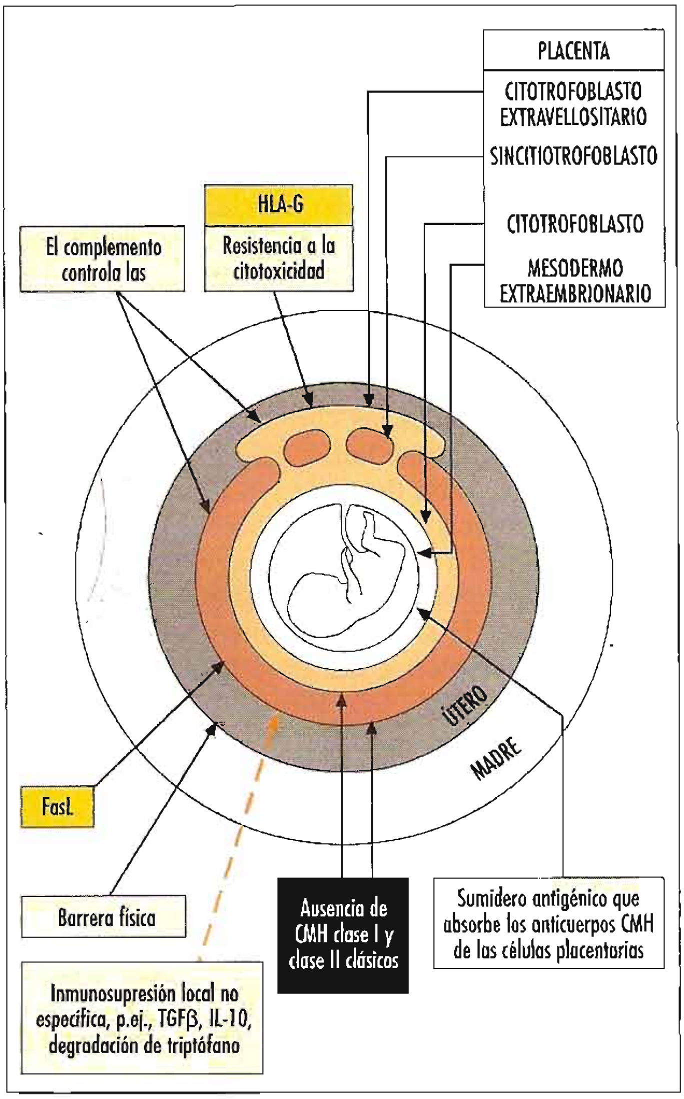

PLACENTA
CITOTROFOBLASTO EXTRAVELLOSITARIO
SINCITIOTROFOBLASTO
CITOTROFOBLASTO
MESODERMO EXTRAEMBRIONARIO
HLA-G
Resistencia a la citotoxicidad
El complemento controla las
FasL
Barrera física
Inmunosupresión local no específica, p.ej., TGFβ, IL-10, degradación de triptófano
Ausencia de CMH clase I y clase II clásicos
Sumidero antigénico que absorbe los anticuerpos CMH de las células placentarias
ÚTERO
MADRE

Fig. 17-20. Mecanismos postulados para explicar la supervivencia del feto como aloinjerto en la madre.

placentas de la descendencia F1 son de mayor tamaño que las normales cuando las madres fueron preinmunizadas contra el haplotipo H2 paterno, y de menor tamaño cuando la madre es tolerante frente a estos antígenos.

El peligro para el feto como injerto en potencia, dado que posee antígenos de trasplante paternos, intrigó tanto a Lewis Thomas que lo indujo a sugerir que el rechazo del feto podría iniciar el parto, si bien sería difícil atribuir el parto normal de la descendencia femenina de parejas de cepa pura cuando el feto y la madre tuvieran idénticos antígenos de histocompatibilidad, sin proponer además un antígeno de superficie específico de la placenta.

No obstante, la sangre materna con linfocitos inmunocompetentes circula en la placenta hemocorial humana en contacto con el trofoblasto fetal y resta explicar cómo el feto evita el rechazo del aloinjerto, a pesar de que en una proporción de madres se desarrolla una respuesta inmune, como evidencia la aparición de anticuerpos anti-HLA y linfocitos citotóxicos. De hecho, la presensibilización con un injerto cutáneo no afecta el embarazo, lo que demuestra que las células trofoblásticas tienen protección inmunitaria; son resistentes a la mayoría de los mecanismos citotóxicos, pero son susceptibles a las células NK activadas por IL-2. En la figura 17-20 se presentan algunas de las numerosas teorías propuestas sobre el tema.

Sin duda, el factor más importante es la bien documentada falta de antígenos CMH clases I y II en las vellosidades trofoblásticas de la placenta, lo que protege al feto del ataque alogénico. Estos cambios fundamentales en la regulación de los genes CMH también conducen a la expresión singular de la proteína HLA-G no clásica en el citotrofoblasto exterior a las vellosidades, que podría proteger el trofoblasto contra la destrucción por linfocitos grandes granulares endometriales, un subtipo de células NK, dado que las células linfoblastoides nulas para HLA transfectadas con HLA-G son resistentes a la lisis por NK. Esto coincide con la "hipótesis de lo propio faltante", que postula que el CMH clase I inhibe las señales positivas de un posible blanco respecto de la célula NK. Por otra parte, la placenta es vulnerable ante las células NK uterinas activadas por IL-2, que en consecuencia deben ajustar la invasión agresiva en exceso debida al trofoblasto al comienzo del embarazo, y podría controlar el desarrollo normal del blastocisto en el útero con decidua, en contraste con la excesiva proliferación del trofoblasto y la destrucción tisular producida por la transferencia de blastocistos a riñones murinos.

Se encuentra IgG materna anti-CMH paterno en el 20% de las primigestas, y esta cifra se incrementa hasta el 75-80% en mujeres multíparas. Algunos de estos anticuerpos forman reacciones cruzadas con HLA-G, pero la vulnerabilidad de las células trofoblásticas frente al complemento se bloquea ante la presencia en su superficie de las proteínas control que inactivan la C3 convertasa (véase pág. 349).

Las citocinas parecen tener una función compleja en el embarazo posimplantación, debido a la producción de factores de crecimiento como CSF-1 y GM-CSF, que ejercen influencia trófica sobre la placenta, y de factor de crecimiento en transformación β (TGFβ), que podría contribuir para frenar la activación de las células NK ante procesos abortivos en potencia, como la exposición intrauterina a lipopolisacáridos (LPS) o interferones. En sí, la placenta produce IL-10, cuya importancia se descubrió mediante experimentos de *noqueo* de la IL-10 (véase pág. 158) que causaron la disminución del creci-

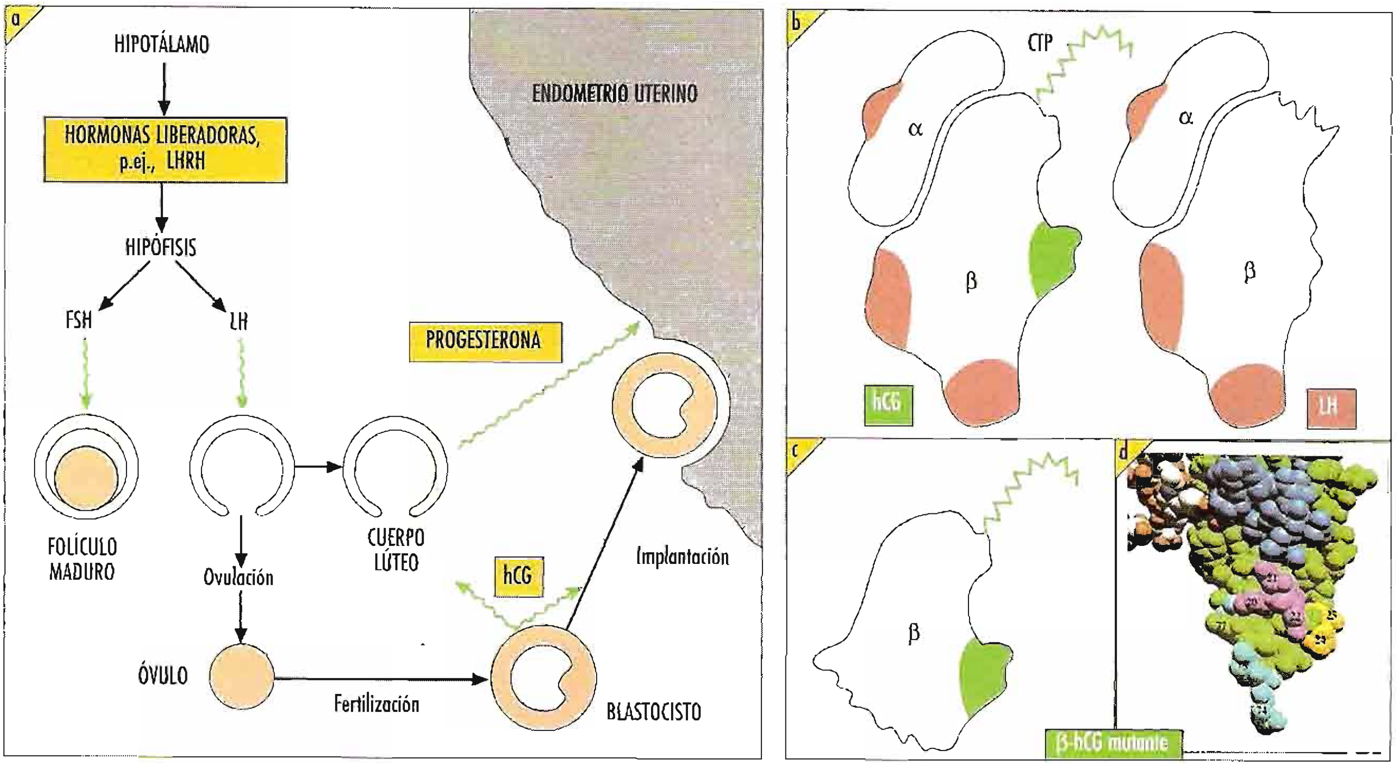


Fig. 17-21. **Anticoncepción inmunitaria.** **a)** Hormonas blanco. **b)** Representación esquemática de la gonadotrofina coriónica humana (hCG), que muestra epítopos específicos para hCG (verde) y estructuras similares, sino idénticas, para hormona luteinizante (LH) (rojo oscuro). **c)** β-hCG mutante, en la que se han mantenido los epítopos específicos para hCG y se han perdido los epítopos compartidos con LH. Como posible vacuna podría evitar el problema de inducir las reacciones cruzadas entre anticuerpos y LH. **d)** Estructura de la β-hCG que muestra algunos de los residuos alterados (magenta, amarillo y ciano) para producir mutantes carentes de epítopo que cumplen los criterios de **c)**. (Reproducido de Jackson A.M. et al (1996) *Journal of Reproductive Immunology* **31**, 21, con autorización de Elsevier Science, Ireland Ltd.)

miento del feto en comparación con los controles de lechigada; por su parte, es una demostración hábil de que la IL-10 es sintetizada por el embrión y no por el trofoblasto.

Entre otros factores que pueden proteger el feto se cuentan la presencia de ligando Fas en la interfase trofoblástica maternofetal, y la supresión de la actividad de las células T por medio de la degradación de triptófano llevada a cabo por la enzima catabólica indolamina-2,3-dioxigenasa que se encuentra en las células trofoblásticas y los macrófagos.

Control inmune de la infertilidad

A pesar de las actitudes complacientes de algunos autores, la opinión informada reconoce la magnitud de los problemas planteados por la explosión demográfica mundial. En consecuencia, se estudian diversos métodos estratégicos, uno de los cuales comprende el ataque de hormonas clave (fig. 17-21a) mediante la elaboración de autoanticuerpos neutralizantes.

La inmunización (en realidad la autoinmunización) mediante **hormona liberadora de hormona luteinizante** (LHRH) ligada a toxoide diftérico, que regula la síntesis de gonadotrofinas, deteriora la fertilidad de animales machos e induce una atrofia marcada de la próstata y una disminución devastadora de los niveles de testosterona, hasta llegar a la castración inmunitaria. El tratamiento se podría aplicar a los carcinomas prostáticos dependientes de andrógenos, mientras que en las mujeres posparto debería impedir la ovulación y prolongar la amenorrea por lactancia, sin efectos secundarios. Se generó la imagen antiidiotipo $Ac_{2\beta}$ interno (véase pág. 234) contra antiprogesterona monoclonal, y se demostró que provoca **anticuerpos neutralizantes de progesterona** en animales de experimentación.

Se centró gran atención en una vacuna humana basada en **gonadotrofina coriónica humana** (hCG), elaborada por el blastocisto antes de la implantación y esencial para establecer el embarazo temprano (fig. 17-21a); también es el antígeno estudiado en las pruebas de embarazo urinarias que tanto placer o consternación generan, según el caso. La cadena α de la hCG es común a la hormona foliculoestimulante (FSH), la tiroestimulante (TSH) y la LH, mientras que la subunidad β presenta un 80% de homología con LH (fig. 17-21b). Es obvio que la inmunización con hCG total podría inducir algunas reacciones poco promisorias, y dos vacunas buscan evitarlas en todo o en parte. Ambas acoplan el antígeno a portadores de toxoide de tétano o de difteria. Las vacunas de la OMS utilizan el péptido C-terminal de 37 aminoácidos (CTP), totalmente específico para hCG, pero no ejercen acción excitante como inmunógeno. La vacuna de la India combina β-hCG con cadena α ovina; así se evocan respuestas de anticuerpo mucho mejores, y en la fase 2 de los estudios clínicos sólo se observó un embarazo en 1.224 ciclos, cuando se superaba cierto nivel de anticuerpos neutralizantes. A pesar de las fuertes reacciones cruzadas con LH se afirma que no hay alteraciones de la ovulación ni pérdida de la libido. A medida que se eleva la cobertura anticonceptiva debida a los anticuerpos se induce la hipersensibilidad celular mediante la implantación intrauterina local de extractos purificados de Neem, un antiguo árbol de la India. Cuando disminuyen los niveles de anticuerpos se restaura la fertilidad. Debería ser posible mantener títulos de anticuerpos adecuados durante períodos prolongados mediante microesferas biodegradables o un producto recombinante derivado de *Salmonella* que incorpora el gen *β-hCG*.

RESUMEN

El rechazo del injerto es una reacción inmune

- Muestra especificidad, el segundo conjunto de respuestas es enérgica, está mediada por linfocitos y se forman anticuerpos específicos contra el injerto.

Control genético de antígenos de trasplante

- En cada especie de vertebrados hay un complejo *m*ayor de *h*istocompatibilidad (CMH) responsable de provocar las reacciones más intensas contra el injerto.
- Los antígenos CMH de los progenitores se expresan en forma codominante en las superficies celulares.

Otras consecuencias de la incompatibilidad CMH

- Las moléculas CMH clase II provocan una reacción linfocitaria mixta de proliferación y transformación blástica cuando interactúan linfocitos disímiles, desde el punto de vista genético.
- Las diferencias de clase II son en gran parte responsables de las reacciones de los linfocitos injertados tolerados contra el antígeno del huésped (reacción injerto versus huésped, i.v.h.).
- Respecto de CMH, los hermanos tienen una probabilidad de identidad de 1:4.

Mecanismos de rechazo del injerto

- Los anticuerpos preformados causan rechazo hiperagudo en el plazo de minutos.
- Los linfocitos CD8 desempeñan un papel importante en el rechazo temprano agudo de las respuestas primarias.
- La intensidad del rechazo al aloinjerto se debe a la cantidad sorprendentemente grande de células precursoras aloespecíficas, que derivan sobre todo de la variedad de células T que reconocen alo-CMH más péptidos propios, más una pequeña cantidad que reconocen directamente la molécula alo-CMH (vía directa); en el rechazo posterior intervienen cantidades crecientes de péptidos alogénicos presentados por el CMH propio (vía indirecta).
- El rechazo tardío agudo de injertos de órganos a partir de los 11 días es causado por la fijación de Ig y C a los vasos del injerto.
- Los rechazos insidioso y tardío se pueden deber al depósito de complejos inmunes o al superarse la inmunosupresión.

Prevención del rechazo de injertos

- Es posible reducirlo al mínimo mediante la compatibilización cruzada del donante y el injerto para ABO y los tipos CMH tisulares. Cada antígeno CMH se tipifica para el PCR mediante pares programados discriminatorios.
- El rechazo se puede bloquear mediante agentes productores de inmunosupresión general como fármacos antimitóticos (p. ej., azatioprina), esteroides antiinflamatorios y monoclonales antilinfocitarios. La ciclosporina A, el FK506 y la rapamicina representan interesantes grupos de

fármacos específicos contra células T; los complejos de ciclosporina y FK506, con sus ligandos celulares, bloquean la calcineurina, una fosfatasa que activa el factor de transcripción de IL-2 NFAT, mientras que la rapamicina forma complejos con la proteína fijadora de FK y bloquea las cinasas que intervienen en la proliferación celular.

- Se puede lograr depresión específica del antígeno mediante la inducción de tolerancia por medio de la inyección de médula ósea alogénica y bloqueo coestimulador con anti-CD154 (CD40L) más una proteína de fusión CTLA-4-Ig. Los precursores de células dendríticas también pueden inducir tolerancia mediante la presentación del antígeno en ausencia de coestimuladores de B7.

Ingeniería de tejidos

- Un objetivo definido es la creación de autoinjertos a partir de células madre o de núcleos adultos reprogramados embriológicamente para su diferenciación en un cultivo bajo la influencia de factores de crecimiento específicos.

Xenoinjertos

- Se desarrollan estrategias tendientes a impedir el rechazo hiperagudo de injertos porcinos en seres humanos, debido a la reacción de anticuerpos naturales en el huésped con epítopos de galactosa en células porcinas y el rechazo vascular agudo por medio de anticuerpos adquiridos elaborados por la respuesta de anticuerpos xenogénicos.

Experiencia clínica en trasplantes

- Los trasplantes de córnea y de cartílago son avasculares, producen factores inmunosupresores locales y, en comparación, son bien tolerados.
- Los trasplantes renales aportan resultados excelentes y son los de más amplia difusión, si bien por lo general se debe continuar con la inmunosupresión.
- También se logran tasas elevadas de buenos resultados en los trasplantes de corazón e hígado, en particular con el auxilio de ciclosporina. Los resultados de los trasplantes de pulmón y de células β pancreáticas no son tan buenos.
- Los trasplantes de médula ósea para los casos de inmunodeficiencia y anemia aplásica se aceptan cuando provienen de hermanos compatibles, pero es difícil evitar la enfermedad i.v.h. con médula alogénica sin antes purgar las células T CD8 en el injerto o, de preferencia, mediante la inducción de tolerancia por bloqueo coestimulador. Los G-CSF y GM-CSF recombinantes aceleran el retorno de las células mieloides tras el injerto.
- Se describieron estudios experimentales sobre el trasplante de tejido neural y la producción de injertos vasculares prostéticos.

Asociación de tipo HLA con la enfermedad

- A menudo se asocian las especificidades HLA con enfermedades particulares, por ejemplo, HLA-B27 con espondilitis anquilosante, B8 con miastenia grave, DR17 con síndrome de Sjögren, DR4 con artritis reumatoidea, DQ2 y DQ8 con diabetes mellitus insulinodependiente, y DR2, DQ6 con esclerosis múltiple.
- La asociación puede relacionarse con la capacidad para fijar péptidos antigénicos particulares o formar reacciones cruzadas con ciertos agentes infecciosos.

El feto como aloinjerto

- Las diferencias entre los CMH de la madre y el feto pueden ser beneficiosas para el feto, pero como injerto en potencia éste debe ser protegido contra el ataque inmunitario de la madre.
- Uno de los mecanismos principales de defensa es la ausencia de antígenos CMH clase I y clase II clásicos sobre el sincitiotrofoblasto y el citotrofoblasto que forman las capas externas de la placenta.
- El citotrofoblasto extravellositario expresa una proteína CMH clase I no polimorfa, HLA-G, que puede inhibir la citotoxicidad inducida por las células NK maternas.
- Las células del sincitiotrofoblasto y el citotrofoblasto portan proteínas de superficie reguladoras del complemento que degradan la C3 convertasa y así bloquean el deterioro mediado por el complemento.
- La producción local de IL-10 y TGFβ, la degradación de triptófano y la presencia de FasL pueden suprimir reacciones indeseables.

CAPÍTULO 18

Inmunología tumoral

www.el12cirujano.blogspot.com/

Introducción, 427
Cambios en la superficie de las células tumorales, 427
  Antígenos controlados por virus, 427
  Expresión de genes normalmente silenciosos, 429
  Antígenos mutantes, 430
  Cambios en la estructura de los hidratos de carbono, 431
  Cambios en la superficie de las células ciclantes, 431
  Moléculas relacionadas con el potencial de metástasis, 431
Respuestas inmunes espontáneas contra los tumores, 432
  Vigilancia inmunitaria contra tumores muy inmunógenos, 432
  ¿Interviene la inmunidad innata?, 433
El desarrollo no regulado da origen a trastornos linfoproliferativos, 434
  La desregulación de protooncogenes es una propiedad característica de muchos tumores linfocitarios, 434
  Las traslocaciones cromosómicas son comunes en los trastornos linfoproliferativos, 435
  En las distintas neoplasias linfoides se observa que la maduración se detiene en estadios característicos de la diferenciación, 435
  Diagnóstico inmunohistológico de las neoplasias linfoides, 436
  Discrasias de células plasmáticas, 437
  Inmunodeficiencia secundaria a trastornos linfoproliferativos, 440
Enfoques inmunoterapéuticos del cáncer, 440
  Terapéutica con citocinas independiente de antígenos, 440
  Aprovechamiento de las respuestas inmunes celulares, 442
  Terapéutica con anticuerpos monoclonales, 446
Inmunodiagnóstico de tumores sólidos, 448
  Marcadores tumorales circulantes y celulares, 448
  Imágenes tumorales in vivo, 448
  Detección de micrometástasis en médula ósea, 448
Resumen, 449
Lecturas adicionales, 450

INTRODUCCIÓN

Desde que se tiene memoria los inmunólogos han querido creer que eran los elegidos para solucionar el problema del cáncer. La suerte de la inmunología tumoral ha mostrado amplias fluctuaciones, con atisbos de logros en un momento y la limitación a enfermos desahuciados en otro. Parece que por fin ha llegado su gran hora.

La capacidad para rechazar los trasplantes de tejido se puede rastrear hasta estadios muy primitivos del árbol evolutivo, incluso hasta los anélidos. Mucho antes de que se llevaran a cabo los estudios sobre el compromiso del *c*omplejo *m*ayor de *h*istocompatibilidad (CMH) propio en las respuestas inmunes, Lewis Thomas sugirió que el mecanismo de rechazo del aloinjerto era un medio a través del cual las células del organismo se podían mantener bajo **vigilancia inmunitaria**, por lo que era posible identificar y eliminar las células alteradas con potencial neoplásico. Para que esto funcione las células cancerosas deben exhibir alguna nueva estructura de superficie discriminatoria, que pueda ser reconocida por el sistema inmune.

CAMBIOS EN LA SUPERFICIE DE LAS CÉLULAS TUMORALES (FIG. 18-1)

Antígenos controlados por virus

Una sustancial minoría de tumores se originan a partir de una infección por **virus oncogénicos**, por ejemplo el virus de Epstein-Barr (EBV) en linfomas, virus de leucemia de células T humana (HTLV-1) en leucemia y papilomavirus en cánceres de cuello uterino. Tras la infección los virus expresan genes homólogos con oncogenes celulares codificadores de los factores que afectan el crecimiento y la división de la célula. En consecuencia, la incapacidad para controlar estos genes puede inducir transformaciones con potencial maligno. Los péptidos derivados de virus y asociados con CMH de superficie sobre las células tumorales se comportan como poderosos antígenos de trasplante que generan células T citotóxicas (Tc) específicas de haplotipo. Todos los tumores inducidos por un virus determinado deberían portar el mismo antígeno de superficie, sin tener en cuenta el origen celular, por lo que la inmunización con cualquiera de estos tumores podrían conferir resistencia ante posteriores enfrentamientos con los demás, siempre que el virus no haya sufrido ingeniosas mutaciones (hito 18-1). Es lamentable que los virus no sean benévolos por naturaleza.

Hito 18-1. Los tumores pueden inducir respuestas inmunes

Las primeras evidencias convincentes sobre la existencia de antígenos asociados con tumores provienen de los trabajos de Prehn y Main, quienes demostraron con claridad que los **cánceres inducidos por medios químicos** pueden desencadenar respuestas inmunes contra ellos mismos, pero no contra otros tumores producidos por ese carcinógeno (fig. H18-1-1a). Los tumores inducidos por **virus oncogénicos** se diferencian por presentar péptidos virales procesados en la superficie de todas las células neoplásicas portadoras del genoma viral, de modo que las células Tc generadas contra un tumor producen reacciones cruzadas contra todas las demás elaboradas por ese virus (fig. H18-1-1b).

Boon y col. lograron avances notables. Primero demostraron que la mutagénesis aleatoria de los tumores trasplantables, o sea capaces de ser pasados dentro de una cepa murina pura sin provocar rechazo, pueden dar origen a una progenie mutante frente a antígenos de trasplante fuertes. Como consecuencia, no proliferaban en animales singénicos con un sistema inmunitario normal y se las denominó variantes **tum-**. El equipo de Boon desarrolló una poderosa tecnología (véase fig. 18-2), que les permitió utilizar clones de Tc específicos para la variante tum- con el fin de revisar clones cósmidos para el gen mutante. Estos dos descubrimientos, el reconocimiento de que la mutación en tumores puede generar reacciones de trasplante fuertes y el desarrollo de la técnica para identificar los antígenos relevantes mediante células Tc, anunciaron avances muy importantes en la inmunología de los tumores y la confirmaron como área clave en la investigación sobre el cáncer.

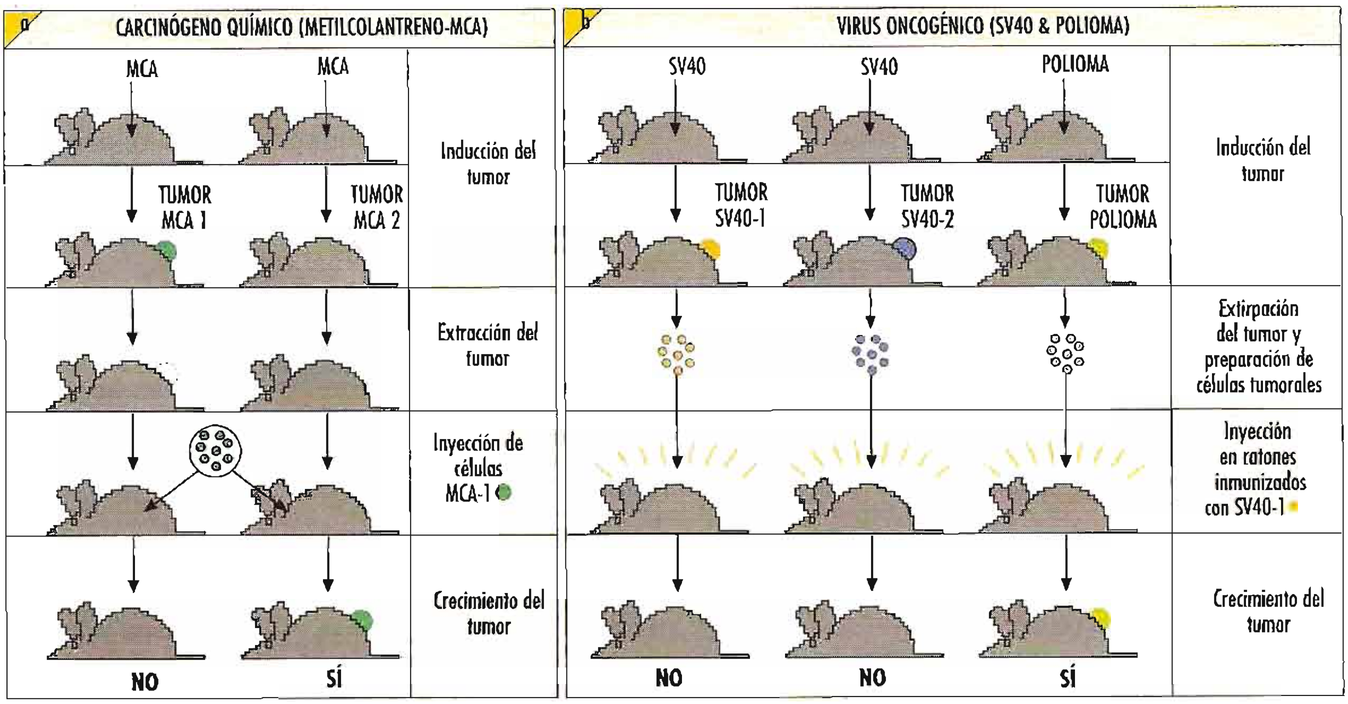

a
CARCINÓGENO QUÍMICO (METILCOLANTRENO-MCA)
MCA
MCA
Inducción del tumor
TUMOR MCA 1
TUMOR MCA 2
Extracción del tumor
Inyección de células MCA-1 ●
Crecimiento del tumor
NO
SÍ
b
VIRUS ONCOGÉNICO (SV40 & POLIOMA)
SV40
SV40
POLIOMA
Inducción del tumor
TUMOR SV40-1
TUMOR SV40-2
TUMOR POLIOMA
Extirpación del tumor y preparación de células tumorales
Inyección en ratones inmunizados con SV40-1 ●
Crecimiento del tumor
NO
NO
SÍ

Fig. H18-1-1. Especificidad de la inmunidad inducida por tumores. a) Un tumor inducido por medios químicos MCA-1 puede inducir resistencia contra un implante propio, pero no contra un tumor producido en un ratón singénico por el mismo carcinógeno. En consecuencia, cada tumor tiene un antígeno propio, que en la actualidad se piensa que es una proteína endógena mutante procesada, que forma complejo con una proteína de shock térmico. Los datos más recientes sugieren que cuando los animales inmunizados se enfrentan con una cantidad muy inferior de células tumorales, se observa menor grado de protección cruzada entre los tumores, y esto se atribuyó a un antígeno oncofetal de 44 kDa, posiblemente una versión inmadura de una proteína receptora de laminina. **b)** Los tumores producidos por determinado virus oncogénico generan inmunidad contra tumores generados en ratones singénicos por el mismo virus, pero no por otros. En consecuencia, los tumores producidos por un virus oncogénico comparten un antígeno común.

Expresión de genes normalmente silenciosos

La división sin control y no regulada de las células cancerosas crea un medio en el cual se pueden expresar los productos de los genes normalmente silenciosos. En ocasiones éstos codifican antígenos de diferenciación que, en condiciones normales, se asocian con un estadio fetal anterior. Así, a menudo se observa que los tumores derivados del mismo tipo celular expresan estos **antígenos oncofetales** que también se encuentran en las células embrionarias. Son ejemplos la α-fetoproteína en el carcinoma hepático y el antígeno carcinoembrionario (CEA) en el cáncer de intestino. Ciertos anticuerpos monoclonales también reaccionan con tumores originados en la cresta neural y los melanocitos fetales. Otro anticuerpo monoclonal define el antígeno SSEA-1, hallado en diversos tumores humanos y en embriones murinos tempranos, pero ausente en las células adultas, salvo los granulocitos y monocitos humanos.

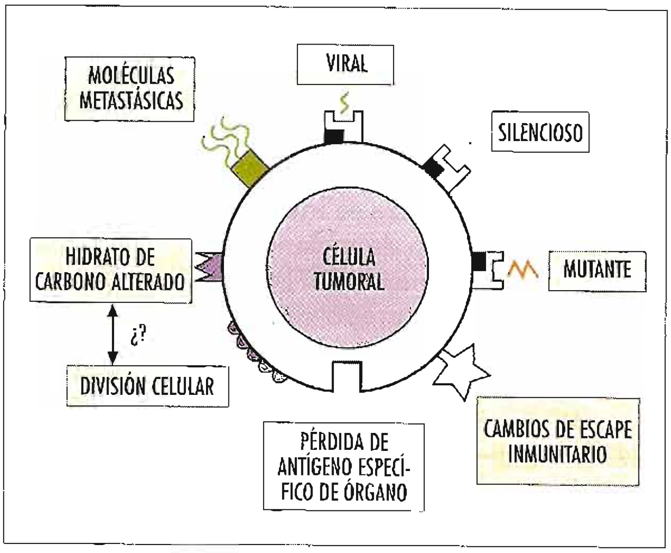

MOLÉCULAS METASTÁSICAS
VIRAL
SILENCIOSO
HIDRATO DE CARBONO ALTERADO
CÉLULA TUMORAL
MUTANTE
¿?
DIVISIÓN CELULAR
PÉRDIDA DE ANTÍGENO ESPECÍFICO DE ÓRGANO
CAMBIOS DE ESCAPE INMUNITARIO

Fig. 18-1. Cambios superficiales asociados con tumores.

Pero el apasionante salto cuántico hacia adelante proviene de la observación inicial de que la nucleoproteína viral citosólica podía ser un blanco para las células Tc, al aparecer sobre la superficie celular como péptido procesado asociado con CMH clase I (véase pág. 105). Se estableció así el principio general de que las proteínas intracelulares que no van a ser ubicadas sobre la superficie de la membrana plasmática pueden, sin embargo, señalar su presencia a las células T en el mundo exterior, a través del mecanismo de péptido procesado y CMH. Las célu-

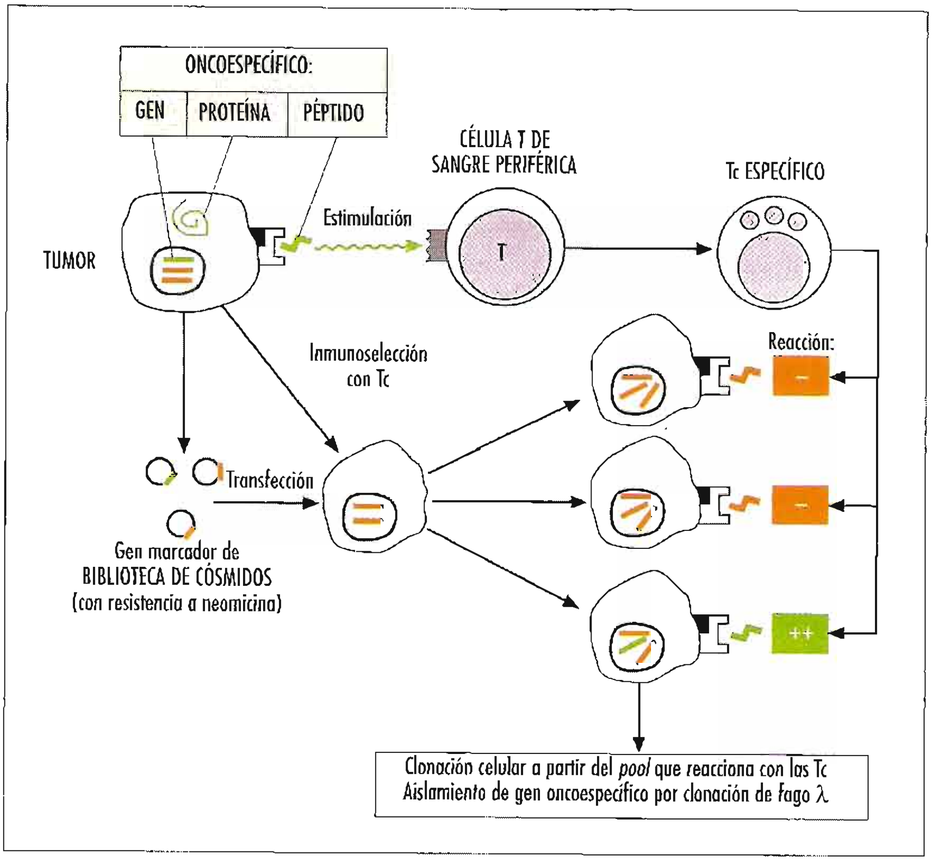

ONCOESPECÍFICO:
GEN
PROTEÍNA
PÉPTIDO
CÉLULA T DE SANGRE PERIFÉRICA
Tc ESPECÍFICO
TUMOR
Estimulación
T
Inmunoselección con Tc
Reacción:
–
–
++
Transfección
Gen marcador de BIBLIOTECA DE CÓSMIDOS (con resistencia a neomicina)
Clonación celular a partir del *pool* que reacciona con las Tc
Aislamiento de gen oncoespecífico por clonación de fago λ

Fig. 18-2. Identificación de un gen oncoespecífico mediante clones de células T citotóxicas (Tc), específicas de tumor, derivadas de un cultivo mixto del tumor con linfocitos. Se transfecta una biblioteca de cósmidos que incorpora el DNA del tumor en una línea celular negativa para el antígeno, derivada del tumor de tipo salvaje por inmunoselección con Tc. Se estudian pequeños *pool* de células transfectadas contra Tc. Se clona un *pool* positivo mediante diluciones limitantes y se clona el gen oncoespecífico (*MAGE-1*) a partir de la(s) fosita(s) positiva(s) para el antígeno. (Basado en van der Bruggen P y col. (1991) *Science* **254**, 1643. Copyright © 1991 por la AAAS). El MAGE-1 pertenece a una familia de 12 genes. Se han descubierto otros genes específicos de melanoma, entre ellos *MART-1*, *gp100* y *tirosinasa*.

las T citotóxicas específicas para las células tumorales, obtenidas de cultivos mixtos de células de sangre periférica con el tumor, se pueden utilizar para establecer la identidad del antígeno mediante la estrategia descrita en la figura 18-2. Como resultado de una notable proeza se identificó el gen codificador de un antígeno de melanoma, MAGE-1, perteneciente a una familia de 12 genes de los cuales seis se expresan en una proporción significativa de melanomas, además de tumores de cabeza y cuello, cánceres pulmonares de células no pequeñas y carcinomas de vejiga. MAGE-1 *no* se expresa en los tejidos normales, salvo para células de línea germinativa en testículos, y da origen a epítopos antigénicos de células T que, debido a la ausencia de CMH clase I en las células testiculares se deben considerar específicos de tumor. Esta interesante investigación revela que el antígeno específico de tumor es una expresión de un gen normalmente silencioso.

Antígenos mutantes

Los estudios elementales sobre mutantes tum- (véase hito 18-1) son convincentes respecto de que ciertas mutaciones puntuales singulares en oncogenes pueden dar lugar a la gran diversidad de antígenos presente en los tumores inducidos por carcinógenos. La inmunidad específica provocada por los tumores inducidos por agentes químicos puede ser desencadenada por las **proteínas de shock térmico** 70 (hsp 70) y 90 (hsp90), aisladas de las células tumorales, pero cuando se extraen los péptidos asociados de bajo peso molecular se pierde la inmunogenicidad. Por su parte, estos péptidos pueden estimular los clones de células T CD8 citotóxicas específicas generadas por los tumores; y se han propuesto tres mecanismos posibles como responsables del incremento de las respuestas inmunes tumorales debido a las hsp. Primero, pueden actuar como señales de "peligro" al activar las células presentadoras de antígeno. Segundo, las células tumorales necróticas que expresan las hsp pueden transferir los complejos hsp-péptido a las células presentadoras de antígeno del huésped, donde tienen capacidad para elaborar la programación cruzada de las células T CD8 a través de la vía de presentación endógena de CMH clase I. Por último, las hsp pueden influir sobre la capacidad de la célula tumoral para procesar y presentar los antígenos

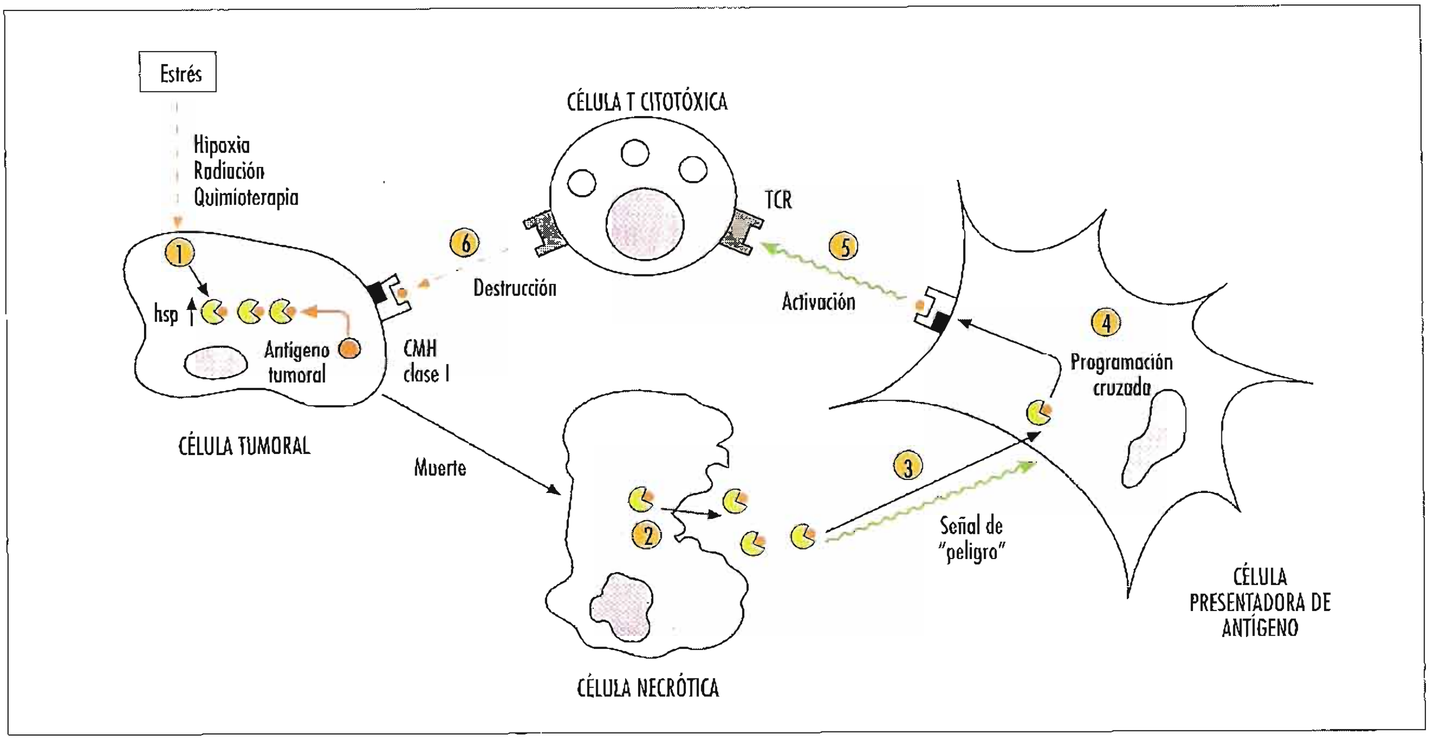


Fig. 18-3. Papel de las proteínas de shock térmico (hsp) en la inmunogenicidad de los tumores. 1) Los factores de estrés estimulan las hsp capaces de formar complejos con el antígeno tumoral procesado e incrementar la presentación superficial del péptido antigénico por CMH clase I. 2) También pueden inducir la necrosis y la liberación de los complejos hsp-péptido, que 3) pueden actuar como señales de peligro estimuladoras de las células dendríticas presentadoras de antígeno e ingresar en el citoplasma, donde 4) pueden ingresar a la vía de procesamiento del CMH clase I a través de la denominada programación cruzada. 5) Se activan las células T CD8 en reposo y 6) destruyen las células tumorales. (Basado en Wells AD & Malkowsky M (2000) *Immunology Today* **21**, 129.)

mutados endógenos y, obviamente, los antígenos "silenciosos", como blancos para células T específicas (fig. 18-3).

Existe considerable evidencia respecto de la producción de péptidos mutados por los tumores humanos. El gen codificador del inhibidor del ciclo celular p53 es un punto candente para la mutación en el cáncer; se han aislado complejos de péptidos hsp70/p53 a partir de tumores mamarios humanos. Los genes oncogénicos *ras* humanos difieren de sus contrapartidas normales en mutaciones puntuales, las cuales por lo general producen sustituciones únicas de aminoácidos en las posiciones 12, 13 o 61. Se registraron estas mutaciones en el 40% de los cánceres colorrectales humanos y en sus lesiones preneoplásicas, en más del 90% de los carcinomas pancreáticos, en leucemia mielógena aguda y en síndromes preleucémicos. El péptido ras mutado puede inducir líneas de células T proliferativas in vitro. Los tumores inducidos por la luz UV producen células Tc aisladas, que no reaccionan con otros tumores o células normales, y sería sorprendente que no se tratara de otro ejemplo de antigenicidad de péptidos mutantes específicos de tumor.

Cambios en la estructura de los hidratos de carbono

El caótico control interno del metabolismo en las células neoplásicas a menudo conduce a la presentación de estructuras anormales de los hidratos de carbono superficiales. En ocasiones se observa bloqueo de la síntesis, por ejemplo la eliminación del antígeno de grupo sanguíneo A. En otros casos puede haber aumento de la síntesis de estructuras ausentes en las células progenitoras; así, algunos cánceres gastrointestinales expresan el antígeno Lewis Le^a en individuos que son $Le(a^-,b^-)$ y otros producen cadenas extendidas portadoras de Le^a dimérico o Le(a,b).

La síntesis anormal de mucina puede tener consecuencias inmunitarias. Por ejemplo, considérense las mucinas de tejido pancreático y mamario, compuestas por un centro polipeptídico de repeticiones en tándem de 20 aminoácidos con muy abundantes cadenas de hidratos de carbono con enlaces de O. Un anticuerpo monoclonal SM-3, dirigido contra el polipéptido central, reacciona poco con el tejido normal, donde el epítopo está enmascarado por glucosilación, pero reacciona muy bien con los carcinomas mamarios y pancreáticos que poseen cadenas con enlaces de O más cortos y más escasos. Las células Tc específicas para las mucinas tumorales no están restringidas por CMH y se ha sugerido, en forma casi herética, que los receptores de células T (TCR) se unen en forma multivalente con los epítopos SM-3 espaciados cercanos de las mucinas no procesadas; como alternativa, y más cerca de la línea en cuestión, el reconocimiento tiene lugar por células $\gamma\delta$.

Cambios en la superficie de las células ciclantes

En algunos casos es posible que los cambios que tienen lugar en la porción de hidratos de carbono de las glucoproteínas de la membrana superficial del tumor sean consecuencia natural de la división celular. Por ejemplo, Thomas halló que la densidad de los determinantes azúcar de superficie que reaccionen en forma cruzada con el grupo sanguíneo H disminuye a medida que las células de mastocitoma murino ingresan en la fase G1 del ciclo de división, mientras que se incrementan, en forma recíproca, los determinantes de grupo B. Los componentes de superficie que se unen a la lectina de la aglutinina del germen de trigo están poco representados en las células T y B en reposo, pero dentro de las 24 horas posteriores a la estimulación por activadores policlonales de linfocitos y antes de comenzar la síntesis de DNA aparecen concentraciones elevadas de sitios fijadores para la lectina.

En las **células activas asociadas con la proliferación y la diseminación tumoral** se pueden observar fenómenos poco usuales, que las diferencian del tumor. Por ejemplo, la glucoproteína de superficie de 95 kDa F19 se expresa en los **fibroblastos reactivos de la estroma** en más del 90% de los carcinomas de colon, mama, pulmón y páncreas, lo que los transforma en un nuevo blanco para el ataque inmunitario, dado que los tejidos adultos normales y los tumores epiteliales benignos expresan niveles bajos o nulos. De modo similar, la glucoproteína muy sializada de la superficie celular, endosialina (FB5), se encuentra en la vasculatura recién generada de una proporción significativa de tumores malignos, pero no en los vasos sanguíneos de los tejidos normales.

Moléculas relacionadas con el potencial de metástasis

Los cambios en los hidratos de carbono de superficie pueden tener efectos notables sobre las neoplasias. Por ejemplo, los cánceres de colon que expresan sialil Le^x tienen mal pronóstico y mayor tendencia a dar metástasis. Los pacientes con cáncer de pulmón cuyos tumores no expresan el antígeno de grupo sanguíneo A tienen un pronóstico mucho más grave que los portadores de tumores con expresión continua de A; esta observación concuerda con el hallazgo de que los pacientes que expresan H/Le^y/Le^b también tienen peor pronóstico que los sujetos negativos para el antígeno.

El papel de **CD44** (HERMES/Pgp-1) en el tránsito celular, sobre la base de su interacción con el endotelio vascular, le ha generado cierta preeminencia para facilitar la diseminación metastática. CD44 aparece en varias isoformas, con una cantidad variable de exones entre los segmentos transmembrana y N-terminal común. El epitelio normal expresa la isoforma CD44H con dominios fijadores de hialurano, pero carece de los exones v1-v10; la expresión de algunos de estos exones sobre los tumores confiere una ventaja para la proliferación, dado que se encuentran con mayor frecuencia en cánceres más avanzados. La transfección estable de un tumor no metastásico con un clon cDNA de CD44 que abarca exones v6 y v7 induce la capacidad para formar tumores metastásicos, lo cual es un efecto sorprendente. Además, la inyección de un v6 monoclonal anti-CD44 impide la formación de metástasis en ganglios linfáticos. Ahora se demostró que los exones v6 y v10 fijan el grupo sanguíneo H y condroitín-4-sulfato, respectivamente; la hipótesis más reciente postula que estos hidratos de carbono pueden fijarse a CD44H sobre el endotelio y, en consecuencia, entre sí en forma homotípica, para así generar un nido de metátasis.

Con bastante frecuencia se han observado cambios en la expresión de moléculas CMH clase I. Por ejemplo, la transformación oncogénica de células infectadas por adenovirus 12 se asocia con una gran disminución de clase I, como consecuencia de niveles muy bajos de los mRNA de TAP-1 y TAP-2. A menudo la mutación conduce a una expresión disminuida o ausente de clase I, vinculada en la mayoría de los casos con mayor potencial de metástasis, lo que es posible que refleje una menor vulnerabilidad frente a las células T, pero no frente a las células NK. Por ejemplo, en el cáncer de mama alrededor del 60% de los tumores metastásicos carecen de clase I.

RESPUESTAS INMUNES ESPONTÁNEAS CONTRA LOS TUMORES

Vigilancia inmunitaria contra tumores muy inmunógenos

Cuando se encuentran presentes muchos de estos antígenos pueden provocar respuestas inmunes en animales de experimentación, las cuales son capaces de producir resistencia contra el crecimiento del tumor pero su eficacia es muy variable. Los poderosos antígenos asociados con tumores inducidos por virus oncogénicos o luz ultravioleta generan fuerte resistencia, mientras que los antígenos de trasplante sobre los tumores inducidos por agentes químicos (hito 18-1) son más débiles y bastante variables; es decepcionante observar que los tumores originados en forma espontánea en los animales producen escasa respuesta o ninguna. De acuerdo con la **teoría de vigilancia inmunitaria** debería haber más tumores en los individuos con sistemas inmunes adaptativos suprimidos, lo cual sin duda parece ser el caso de los **tumores muy inmunógenos**. Se observa un notable incremento de cáncer de piel en pacientes inmunosuprimidos que habitan en regiones muy soleadas al norte de Brisbane, y por lo general los receptores de trasplante tratados con fármacos inmunosupresores son muy susceptibles a cánceres de piel, en su mayor parte asociados con papilomavirus y linfomas positivos para EBV. Los linfomas de Burkitt relacionados con EBV aparecen con frecuencia excesiva en regiones con infecciones palúdicas que comprometen la eficacia del sistema inmune. De modo similar, los linfomas originados en niños con deficiencia de células T, relacionada con el síndrome de Wiskott-Aldrich o ataxia telangiectasia, expresan genes *EBV* y presentan una expresión muy restringida de proteínas EBV latentes; éstos son los principales epítopos blanco potenciales para el reconocimiento inmune, pero no se pueden detectar sobre la superficie las moléculas de adhesión celular, por ejemplo la molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1) y la molécula asociada a la función linfocitaria 3 (LFA-3), que median la formación de conjugados con las células Tc (fig. 18-4). Dado que la mayoría de las personas normales poseen células Tc específicas para EBV muy eficientes, cabe deducir que sólo a través de la inhibición de las moléculas de superficie adecuadas las células de linfoma podrían escapar incluso a la limitada vigilancia de las células T que opera en estos pacientes.

Como es de suponer, los tumores poseen gran cantidad de **mecanismos inmunitarios de escape** (fig. 18-4), por lo que se asemejan a infecciones exitosas. Una vía importante es la inhibición de HLA clase I para transformar el tumor en un blanco menos atractivo para las células T citolíticas. Ya se hizo referencia a este tema, como característica común de las metástasis de los cánceres de mama, y también es cierto para los carcinomas cervicales, en los cuales, desde el punto de vista del pronóstico, la pérdida de HLA-B44 en lesiones premalignas indica el progreso del tumor. La pérdida de epítopos

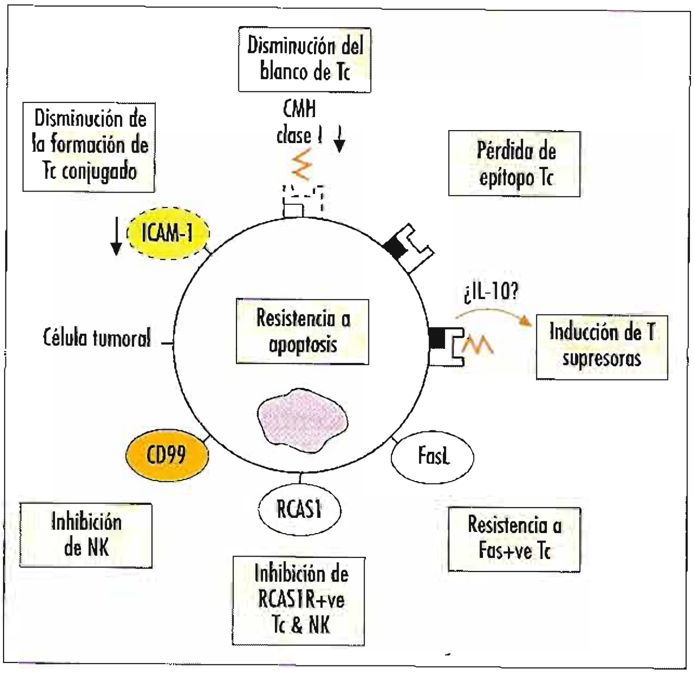


Fig. 18-4. Mecanismo de escape de tumores.

antigénicos del tumor es otro mecanismo de escape; las mutaciones de un virus oncogénico pueden incrementar su potencial de generar tumores; en consecuencia, la asociación frecuente entre una variante de alto riesgo de papilomavirus humano y tumores cervicales en personas HLA-B7 se atribuye a la pérdida de un epítopo de célula T, cuya presencia generaría una respuesta citolítica protectora mediada por B7. Los tumores también pueden disminuir su vulnerabilidad al ataque de células T citotóxicas, mediante la expresión de FasL de superficie (véase pág. 20) y de la molécula inhibidora del crecimiento RCAS1, que reacciona con las células T portadoras de sus correspondientes receptores y las detiene en su camino. Además cabe recordar que los defectos internos de la apoptosis que favorecen la aparición de un clon tumoral también hacen que éstos sean más difícil de destruir por las células T citotóxicas. En cierto modo reconforta arribar a la conclusión de que la existencia de estos mecanismos mágicos son evidencias de la presión selectiva ejercida por el sistema inmune de adaptación.

Los cánceres que expresan antígenos nuevos de **baja inmunogenicidad** no aparecen en forma subrepticia cuando los pacientes son sometidos a inmunosupresión radical, y si bien a menudo se pueden rescatar respuestas de células T a partir de linfocitos infiltrantes de tumores o detectar cantidades bastante grandes de células T CD8 específicas de tumor mediante la técnica de tetrámero HLA-péptido en sangre periférica, pueden presentar deficiencias funcionales quizá debidas a la supresión por IL-10 y TGFβ locales. La mutación de p53 y su expresión excesiva son fenómenos muy comunes en el cáncer humano, a menudo asociados con la producción de anticuerpos; pero si bien podría probarse su utilidad diagnóstica, es muy improbable que sean beneficiosos para el paciente, pues el punto de vista actual sostiene que las respuestas *celulares* son cruciales para el ataque contra antígenos internos expresados en los tumores sólidos. De mala gana se debe aceptar la opinión de que con los tumores de inmunogenicidad baja se trabaja con reacciones amortiguadas que claramente desempeñan un papel pequeño tendiente a frenar el proceso neoplásico. Esto no significa que no se puedan explotar estos antígenos "débiles" con fines terapéuticos, como pronto se verá.

¿Interviene la inmunidad innata?

Al hablar de la inmunidad a los tumores quizá sólo se piense en términos de respuestas adquiridas, aunque ahora se acepta que los mecanismos innatos son significativos. Los macrófagos que a menudo se infiltran en una masa tumoral pueden destruir las células tumorales en cultivos de tejido debido a la copiosa producción de intermediarios reactivos de oxígeno (IRO) y de factor de necrosis tumoral (TNF), cuando son activados por diversos factores, como lipopolisacárido bacteriano, RNA bicatenario, interferón γ (IFNγ), etc.

Se observa un inusitado interés centrado en las células **natural killer (NK)**. En general se acepta que actúan como primer mecanismo efector celular contra la diseminación de metástasis por la vía hemática. Las evidencias indican que los pacientes con enfermedad metastásica avanzada a menudo presentan actividad NK anormal y los niveles disminuidos parecen predecir la aparición de metástasis. En animales de experimentación la eliminación de células NK en ratones con melanoma B16 extirpado por cirugía produce enfermedad metastásica descontrolada y muerte. La intoxicación etílica aguda en ratas incrementó diez veces la cantidad de metástasis de un tumor sensible a NK, pero no tuvo efecto sobre un cáncer resistente a NK, lo que sugiere una posible causa subyacente para la asociación entre alcoholismo, enfermedad infecciosa y neoplasias malignas. (No deben preocuparse demasiado aquellos que disfrutan de ocasionales libaciones bacanales; que les sirva de consuelo el efecto beneficioso sobre las cardiopatías, pero sin excesos.) Los ratones beige con carencia congénita de células NK brindan poderosas evidencias respecto de la intervención de estas células en la protección contra el cáncer. Estos ratones mueren a causa de tumores espontáneos antes que el resto de la lechigada +/bg no deficientes; la incidencia de leucemia inducida por radiación es disminuida por la inyección previa de células NK isogénicas clonadas, que podrían suprimir las células preleucémicas. Sin embargo, cabe destacar que los tumores inducidos por agentes químicos o por el virus de leucemia murina son tratados con normalidad.

Las células NK en reposo son citolíticas en forma espontánea para algunos blancos tumorales, pero no para todos; las células activadas por IL-2 y quizá por IL-12 e IL-18 muestran una letalidad más amplia. Como se describió antes, en el capítulo 4, en el reconocimiento de las estructuras de superficie sobre la célula blanco intervienen diversos receptores activadores e inhibidores, pero es importante volver a destacar que el reconocimiento de la clase I imparte una señal **inactivadora negativa** a las células NK. Por su parte, esto implica que la inhibición de CMH clase I, que los tumores utilizan como estrategia para escapar de las células Tc (fig. 18-4), las torna **más susceptibles al ataque NK**. Las células tumorales pueden defenderse por medio de la expresión de CD99, que inhibe CD16 de NK, y del inhibidor de crecimiento RCAS1, que induce la apoptosis de las células NK y Tc (fig. 18-4). No se sabe con certeza si el FasL de superficie, capaz de repeler el ataque de las células T citolíticas positivas para Fas, también es efectivo contra las células NK, pero la resistencia relativa de las células tumorales a la apoptosis debe ser una protección innata.

Se detectaron ciertas diferencias entre las células NK; en seres humanos constituyen hasta el 50% de los linfocitos asociados con el hígado y exhiben un mayor nivel de expresión del receptor para IL-2 y de moléculas de adhesión, como las integrinas, que las células NK de sangre periférica. Son los precursores de un subtipo de células NK adherentes activadas (A-NK), que se adhieren con rapidez a las superficies sólidas por efecto de la IL-2, y se distinguen de sus contrapartidas no adherentes por la mayor facilidad con que ingresan en los tumores sólidos y prolongan la supervivencia después de la transferencia adoptiva con IL-2 a modelos animales, para el crecimiento de tumores o metástasis. La variedad NK no adherente destruye mejor las células cancerosas recubiertas por anticuerpo, mediante el mecanismo de citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo (CCDA), a través del receptor CD16 FcγRIII.

Es necesario resguardar las células NK. Al acostarse muy tarde se acorta mucho el sueño de onda corta, con las consecuentes disminuciones drásticas de la cantidad de células NK y de los niveles de IL-2, además de los ojos cansados.

EL DESARROLLO NO REGULADO DA ORIGEN A TRASTORNOS LINFOPROLIFERATIVOS

Ahora es necesario concentrar la atención en la forma a través de la cual incluso las células que intervienen en las respuestas inmunitarias pueden sufrir transformación maligna, lo que da origen a leucemias, linfomas o mielomas caracterizados por la proliferación descontrolada. Un ejemplo obvio es el subconjunto de leucemias de células T humanas del adulto asociadas con **HTLV-1** (virus de leucemia por células T humana tipo 1). Tras la infección de la célula T, la proteína viral tax expresada en forma constitutiva estimula la transcripción de *IL-2*, *IL-2R*, etc., por lo que hay una proliferación vigorosa; sin embargo, la transformación maligna sólo se produce si aparece una anomalía cromosómica ulterior (véase más adelante).

La desregulación de protooncogenes es una propiedad característica de muchos tumores linfocitarios

El descubrimiento de que los oncogenes virales casi con certeza derivan de los genes normales del huésped que intervienen en la regulación de la proliferación celular permitió la identificación de muchos de estos protooncogenes. Uno de ellos, c-*myc*, parece tener importancia esencial en el ingreso al ciclo celular del linfocito y posiblemente de muchas otras células, desde el estadio de reposo G0, mientras que la interrupción de la expresión de c-*myc* se relaciona con la salida de la célula del ciclo y su retorno a G0. Así, la desregulación de la expresión de c-*myc* impide que las células abandonen el ciclo y las obliga a un destino de replicación continua. Esto se observa en muchos trastornos neoplásicos proliferativos de linfocitos B, mientras que las células malignas expresan niveles elevados de proteína c-myc que suelen estar asociados con una traslocación cromosómica recíproca que afecta el sitio c-*myc*. Por ejemplo, el linfoma de Burkitt es una neoplasia de células B bastante frecuente en niños africanos, en asociación con el EBV; en la mayoría de los casos estudiados el gen c-*myc*, ubicado en la banda q24 del cromosoma 8, se une mediante un fe-

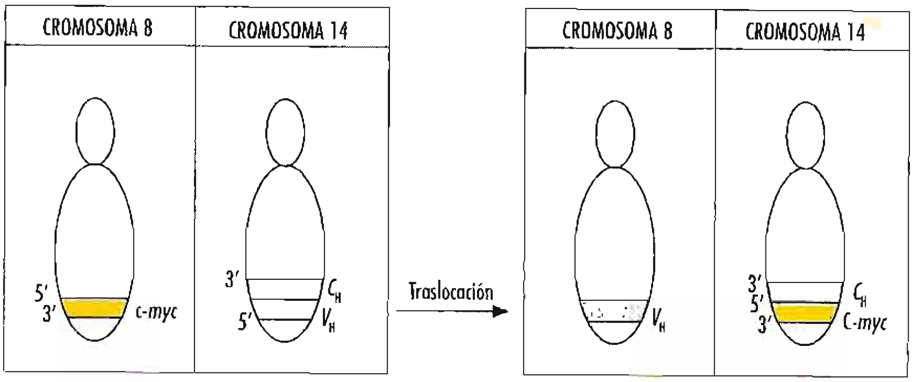


Fig. 18-5. Traslocación del gen c-*myc* al locus de la cadena μ en el linfoma de Burkitt.

nómeno de traslocación recíproca al gen de la cadena pesada μ sobre la banda q32 del cromosoma 14 (fig. 18-5). Se ha sugerido que los mecanismos normales que inhiben c-*myc* ya no pueden actuar sobre el gen traslocado, por lo que la célula permanece en el ciclo. Con menor frecuencia c-*myc* se trasloca a la ubicación de los sitios κ (cromosoma 2) o λ (cromosoma 22).

Las traslocaciones cromosómicas son comunes en los trastornos linfoproliferativos

La mayoría de los linfomas y las leucemias presentan anomalías cromosómicas visibles unidas a traslocaciones de los loci génicos de las inmunoglobulinas de células B o de los receptores de células T, pero no siempre afectan c-*myc*. Se ha identificado una traslocación recíproca entre el gen de la cadena μ en el cromosoma 14 y el oncogen *bcl*-2 en el cromosoma 18, en casi todos los linfomas foliculares de células B, y otra entre el gen de células T en el cromosoma 14 (q11) y un supuesto oncogén en el cromosoma 11 en la *l*eucemia *l*infoblástica *a*guda de células *T* (LLA-T).

La génesis de un linfoma es un proceso de múltiples pasos. La falta de control sobre la proliferación, generada por la desregulación de c-*myc*, y otros fenómenos similares inducidos por traslocaciones cromosómicas incrementan la vulnerabilidad tendiente a la inducción de neoplasias, pero no es suficiente para generar la transformación maligna. Así, los ratones transgénicos portadores de un gen c-*myc* y dirigidos por el intensificador de cadenas pesadas μ (ratones E_μ-*myc*) presentan expansiones hiperplásicas de la población de células pre-B en la médula ósea y el bazo durante el período preneoplásico, pero no desarrollan tumores hasta unos 6-8 meses después; además, en ese momento son monoclonales y no policlonales, lo que sugiere que se necesita un segundo proceso aleatorio para lograr la autonomía. Por ejemplo, si los ratones transgénicos E_μ-*myc* se infectan por virus portadores del oncogén v-*raf* desarrollan linfomas con rapidez. En general se piensa que mientras factores como c-myc pueden hacer que una célula sea competente para la mitosis, la división celular sólo se produce cuando además se estimulan **genes de progresión del ciclo celular** como *fos*, *jun* y *myb*, o se pierden **productos génicos supresores del ciclo celular,** como p53. La desregulación de dos de estos procesos puede actuar en forma sinérgica durante la transformación maligna y la correspondiente proliferación celular inalterada.

Se pueden utilizar ratones transgénicos con susceptibilidad para desarrollar cáncer, con el fin de complementar la prueba de Ames respecto de posibles agentes carcinógenos. Por otra parte, los ratones con *p53* alterado que desarrollan tumores son ideales para el estudio de posibles tratamientos para impedir la carcinogénesis. En este sistema se confirmó en forma admirable el efecto protector de la restricción calórica sobre los cambios neoplásicos.

En las distintas neoplasias linfoides se observa que la maduración se detiene en estadios característicos de la diferenciación

En casi cualquier estadio de diferenciación o maduración las células linfáticas pueden transformarse en malignas y proliferar hasta formar un clon de células que parecen estar "congeladas" en determinado estadio de desarrollo, debido a defectos de la maduración. Las células malignas poseen los marcadores esperados en los linfocitos normales que alcanzan el estado en que se ha detenido la maduración. En consecuencia, las células de la leucemia linfocítica crónica se asemejan a las células B maduras por expresar en su superficie CMH clase II

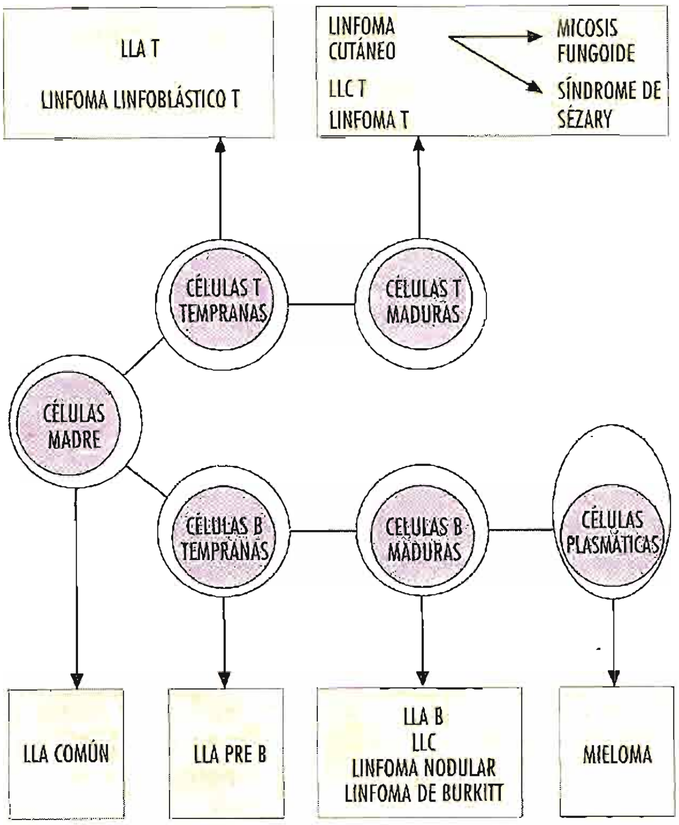


Fig. 18-6. Fenotipo celular de neoplasias malignas linfoides humanas. LLA, leucemia linfoblástica aguda; LLC leucemia linfocítica crónica. (Según Greaves MF & Janossy G, comunicación personal.)

e Ig, aunque de un único idiotipo en cada paciente. Mediante el uso de anticuerpos monoclonales dirigidos contra la desoxinucleotidiltransferasa terminal (véase fig. 18-7a), el CMH clase II, la Ig y los antígenos específicos sobre los timocitos corticales, las células T maduras y las células de leucemia linfoblástica aguda no T, no B ha sido posible clasificar las neoplasias malignas linfoides respecto del fenotipo de la célula normal equivalente (fig.18-6).

La susceptibilidad a la transformación maligna es elevada en los linfocitos durante los estadios iniciales de la ontogenia. Si se analiza el linfoma de Burkitt, es más probable que la traslocación inducida por EBV de c-*myc*, para colocarlo bajo el control del complejo génico *IgH*, tenga lugar en el estadio de pro-B, dado que la estructura de cromatina del sitio Ig se abre para la transcripción, como se demuestra a través de la aparición de transcripciones C_μ estériles. Por otra parte, es probable que la célula escape del reconocimiento inmunitario dado que en el estado indiferenciado de reposo inhibe los antígenos codificados por EBV y las especificidades polimorfas de CMH clase I, además de las moléculas de adhesión LFA-1, LFA-3 e ICAM-1, como ya se mencionó.

En un principio se pensaba que la maduración se detenía en el primer estadio de transformación maligna de la célula, pero ahora se sabe que las células tumorales pueden ser forzadas a diferenciarse por agentes como el acetato miristato de forbol; el punto de vista actual es que las células pueden sufrir algunos pasos de diferenciación tras la transformación maligna, antes de detenerse. La presencia de un idiotipo de proteína de mieloma en las cadenas μ citoplasmáticas de las células pre-B, en el mismo paciente, sin duda favorece el concepto de que el proceso maligno ha tenido lugar en una célula pre-B cuya progenie formó el tumor de células plasmáticas. Sin embargo, una explicación alternativa podría ser la transfección de células pre-B normales por un complejo de oncogenes proveniente de las células de mieloma, posiblemente a través de un vector viral. El notable descubrimiento de los retrovirus asociados con ciertas leucemias por células T, podría ser una posibilidad interesante.

Diagnóstico inmunohistológico de las neoplasias linfoides

Debido a la disponibilidad de diversos anticuerpos monoclonales y a los avances en la tecnología inmunoenzimática se han llevado a cabo grandes estudios tendientes a explotar con fines diagnósticos la presencia en las células linfáticas de los marcadores de los linfocitos normales, que son sus equivalentes.

Leucemias

Este concepto se verifica bastante bien al analizar los marcadores utilizados para distinguir entre los diversos tipos de leucemia (cuadro 18-1). Los casos de LLA T y LLA B tienen mal pronóstico, pero los pacientes positivos para el antígeno de leucemia linfoblástica aguda común (CALLA; fig. 18-7b), presente en la mayoría de las leucemias de la infancia, pertenecen a un grupo con pronóstico favorable y muchos responden a las combinaciones terapéuticas estándar de vincristina, prednisolona y L-asparaginasa. El trasplante de médula ósea puede ser útil en el manejo de pacientes con LLA recurrente, siempre que se haya logrado una remisión previa. La expresión de los marcadores de linaje linfático CD2 y CD19 sobre los blastos leucémicos indica un buen pronóstico en adultos enfermos.

Cuadro 18-1. *Clasificación de las leucemias linfocíticas mediante tinción inmunoenzimática*

MARCADOR DE LINFOCITOS	LLA COMÚN	LLA PRE-B CÉLULAS B	LLA DE CÉLULAS T	LLA DE LINFOCÍTICA	LEUCEMIA CRÓNICA
*CALLA (CD10)	+	+	–	–	–
μ citoplasmático	–	+	–	–	–
μ de superficie	–	–	+	–	+
κ o λ de superficie	–	–	+	–	+
Pan-B	–	+	+	–	+
TdT	+	+	–	+	–
CD5	–	–	–	+	+
CD2	–	–	–	+	–
HLA-DR	+	+	+	–	+

*Específico de antígeno para células precursoras linfáticas y células pre-B.

La leucemia linfocítica crónica es poco frecuente en personas menores de 50 años y suele ser bastante benigna, si bien el 10-20% de los pacientes con Ig monoclonal circulante tiene mal pronóstico. En la sangre aparecen cantidades excesivas de pequeños linfocitos de LLC (fig. 18-7c-e) y, dado que derivan del mismo clon, sólo se pueden teñir con anti-κ o anti-λ (cuadro 18-1). La débil expresión de CD5 sugiere con firmeza que pueden derivar del equivalente de la población de células B-1, en especial debido a que pueden ser estimuladas para que elaboren los autoanticuerpos poliespecíficos IgM, característicos de este subtipo, cuando son presionadas por la estimulación por éster de forbol.

Linfomas

El extenso uso de marcadores facilitó mucho el diagnóstico de linfomas no Hodgkin. En primer lugar, la difícil distinción entre el trastorno linfoproliferativo y el carcinoma a veces se facilita mediante la aplicación de anticuerpos monoclonales contra el antígeno común leucocitario (CD45), los cuales reaccionan con todas las células linfáticas de los cortes en parafina o sometidas a proceso criostático, y anticuerpos contra citoqueratina, que reconocen la mayoría de los carcinomas (fig. 18-7f). En segundo lugar, mediante paneles de monoclonales que diferencian los elementos celulares que conforman el tejido linfoide normal se puede conocer con certeza la célula de origen del linfoma.

La mayor parte de los linfomas no Hogkin se origina en células B y la característica reveladora del diagnóstico para los inmunólogos es la síntesis de Ig monotípica, o sea de sólo una cadena liviana (fig. 18-7g); en contraste, la población de células en un sitio de hiperplasia de células B reactivas se tiñe para las cadenas κ y λ (fig. 18-7h).

Los linfomas de células del centro folicular (fig. 18-7g) que imitan el centro germinativo reactivo representan más del 50% de los linfomas B. Exhiben Ig de superficie monotípica y los centrocitos y centroblastos de mayor tamaño, que componen los dos tercios de los casos, contienen Ig citoplasmática. Se tiñen para CMH clase II y débilmente para CALLA. Algunas células con morfología similar conforman tumores denominados en conjunto "linfomas de la zona del manto" o "linfomas de células pequeñas escindidas", pero difieren de las células del centro folicular en que presentan tinción de superficie positiva para IgM e IgD y CD5, y negativa para CALLA. Las células linfoblastoides del linfoma de Burkitt (fig. 18-7i) exhiben el antígeno común LLA e IgM de superficie.

El pronóstico global de los pacientes con linfoma no Hodgkin es malo, aunque mejora con la quimioterapia combinada. En los receptores de trasplante se observa una probabilidad 35 veces mayor de desarrollar linfoma que los individuos normales, y hay indicios de que esto no necesariamente se debe atribuir a la inmunosupresión de largo plazo.

La enfermedad de Hodgkin ataca la arquitectura macroscópica del tejido linfoide y se caracteriza por la presencia de células gigantes binucleadas, denominadas células de Reed-Sternberg (fig. 18-7j), que parecen tener un centro germinativo del linaje de células B. La terapéutica depende del estadio de la patología; los pacientes con enfermedad localizada en el tejido linfoide por encima del diafragma responden bien a la radioterapia, mientras que los portadores de enfermedad diseminada requieren un tratamiento más agresivo.

Discrasias de células plasmáticas

Mieloma múltiple

Se define como la proliferación maligna de un clon de células plasmáticas en la médula ósea que secreta Ig monoclonal. El mieloma o componente "M" sérico se detecta como una banda densa en la electroforesis en papel (fig. 18-8), dado que obvia-

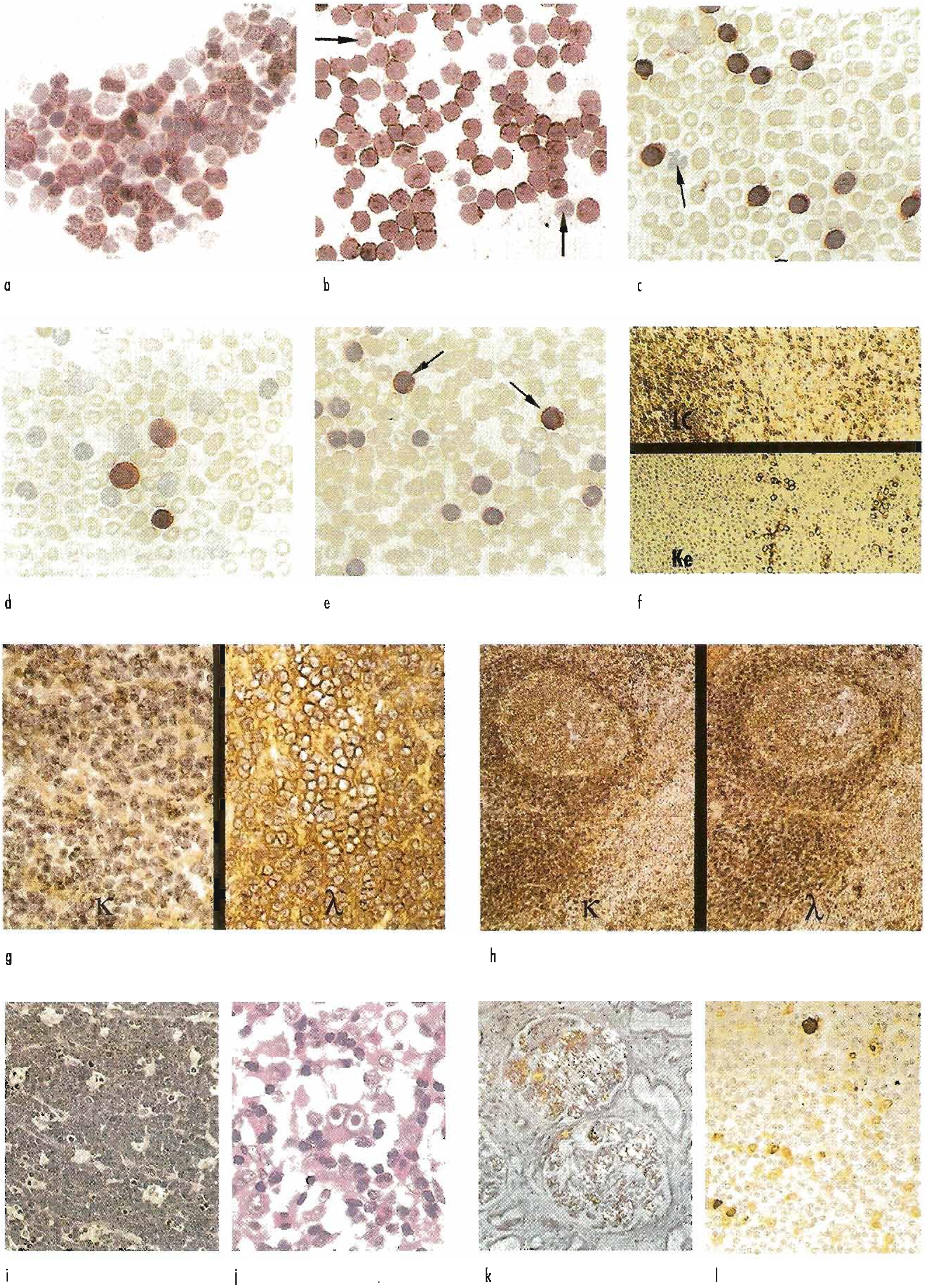

a
b
c
d
e
Lc
Ke
f
κ
λ
g
κ
λ
h
i
j
k
l

Fig. 18-7. *(Página opuesta)* **Diagnóstico inmunológico de trastornos linfoproliferativos. a)** Células blásticas citocentrifugadas provenientes de un caso de leucemia linfoblástica aguda, teñidas para detectar desoxinucleotidiltransferasa antiterminal (TdT) mediante un método inmunológico con fosfatasa alcalina (primero se tratan las células con anti-TdT monoclonal murino, luego con Ig antirratón y por último con un complejo inmune de antifosfatasa alcalina murina + fosfatasa alcalina, antes de desarrollar la reacción enzimática de color púrpura rojizo). Se distinguen muchas células blásticas intensamente teñidas junto con células normales de médula sin marcar. **b)** Inmunotinción con fosfatasa alcalina de células de médula ósea provenientes de un caso de leucemia linfoblástica aguda, mediante anticuerpo monoclonal específico para el antígeno de leucemia linfoblástica aguda común (anti-CALLA; anticuerpo J5). La mayoría de las células tienen una marca intensa. Se indican dos células no reactivas mediante flechas. **c, d, e)** Inmunomarcado con fosfatasa alcalina de extendidos de sangre provenientes de un caso de leucemia linfocítica crónica con tres anticuerpos monoclonales (anti-HLA-DR, antígeno anti-CD3 y antígeno anti-CD1); **c)** el antígeno HLA-DR se encuentra en todas las células leucémicas presentes, pero falta en un leucocito polimorfonuclear (flecha); **d)** tres células T normales están marcadas para el antígeno CD3, mientras que las células leucémicas son negativas; **e)** el antígeno CD1 se expresa con intensidad en dos linfocitos normales (flechas) y débilmente en las células de leucemia linfocítica crónica (LLC). Este patrón es típico de LLC. **f)** Un caso de carcinoma gástrico (teñido en la parte inferior con anticitoqueratina, Ke) con abundante infiltrado linfocitario (parte superior teñida con antígeno común antileucocito, LC). **g)** Linfoma difuso de células B de centro folicular, con restricción de cadena liviana λ; compárese con **h)** la tinción de un ganglio linfático reactivo para cadenas livianas κ y λ. **i)** Linfoma de Burkitt, con aspecto de "cielo estrellado". **j)** Enfermedad de Hodgkin, con celularidad mixta y una célula binucleada de Reed-Sternberg característica, que muestra destacados nucléolos masivos en el centro de la figura. **k)** Depósitos birrefringentes de amiloide en glomérulos renales, que se distinguen bajo luz polarizada mediante tinción con rojo Congo. **l)** Un caso de linfoma maligno asociado con macroglobulinemia, que muestra células linfoplasmocitoides teñidas mediante reacción parda con inmunoperoxidasa para IgM citoplasmática. [**a)-e)** Cedidos gentilmente por el profesor D. Mason, y **f)-l)** por el profesor P. Isaacson.]

mente todas las moléculas del clon son idénticas y tienen la misma movilidad. Las células secretoras de Ig producen un exceso de cadenas livianas; éstas aparecen libres en el plasma de muchos pacientes con mieloma, se pueden detectar en la orina como proteína de Bence-Jones (véase fig. 16-23) y dan origen a depósitos amiloides (véase más adelante). Se piensa que las lesiones osteolíticas "en sacabocado", características de los huesos, se deben a la liberación de factores osteoclásticos como IL-6 por las células plasmáticas anormales de la médula. La enfermedad progresa con rapidez si no se trata. En la actualidad el promedio de supervivencia con quimioterapia a partir del diagnóstico es de unos 5 años.

En el suero de numerosos pacientes sin signos clínicos de mieloma se han detectado bandas "M"; la relativa rareza con que se desarrolla mieloma múltiple invasor en estos pacientes y el nivel constante de proteína monoclonal durante varios años sugiere la presencia de tumores benignos de las series de células plasmáticas y linfocitos.

Amiloide. Entre el 10 y el 20% de los pacientes con mieloma desarrollan depósitos de amiloide diseminados, que contienen la región variable de la cadena liviana de mieloma. Como son idénticos, los fragmentos de la región variable se polimerizan y forman las fibrillas amiloides características, que se detectan por refringencia tras la tinción con rojo Congo (fig. 18-7k). Aún no se han caracterizado otros componentes del amiloide. Las fibrillas muestran relativa resistencia a la digestión y se acumulan en la sustancia fundamental del tejido conectivo, donde pueden producir cambios patológicos en riñones, corazón y encéfalo. También se forma amiloide como consecuencia de trastornos inflamatorios crónicos, como artritis reumatoidea y fiebre familiar del Mediterráneo; pero en este caso afecta la polimerización de una sustancia singular, el amiloide A (AA), una proteína derivada de la porción N-terminal de un precursor sérico (SAA) de peso molecular 90 kDa. El SAA se comporta como una proteína de fase aguda, dado que su concentración aumenta con rapidez en respuesta a la lesión o la inflamación del tejido. Los niveles se incrementan con la edad y la minoría que presenta valores elevados tiene mayor probabilidad de desarrollar amiloide.

Macroglobulinemia de Waldenström

Este trastorno se debe a la proliferación descontrolada de células de aspecto intermedio, denominadas linfoplasmacitoides, que secretan una IgM monoclonal, la macroglobulina de Waldenström (fig. 18-7l). Cabe destacar que muchas de las proteínas monoclonales poseen actividad de autoanticuerpo, anti-DNA, anti-IgG (factor reumatoideo), etc. Se ha sugerido que, al igual que las células LLC, tienen linaje B-1 secretor de anticuerpos "naturales" (véase pág. 267). Dado que se secretan grandes cantidades de IgM confinadas al compartimiento intravascular, hay un incremento marcado de la viscosidad sérica, cuyas consecuencias se pueden mitigar en forma temporaria mediante vigorosa plasmaféresis. La enfermedad tiene un curso bastante benigno y el pronóstico es relativamente bueno, si bien la aparición de células tumorales linfoplasmacitoides en la sangre es un signo ominoso.

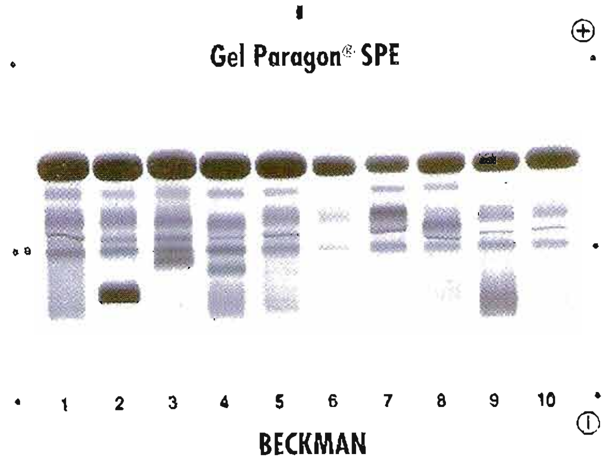


Fig. 18-8. Paraproteína de mieloma demostrada mediante electroforesis en gel del suero. Corrida 1, normal; corrida 2, paraproteína γ; corrida 3, paraproteína β cercana; corrida 4, banda de fibrinógeno en la región γ de la muestra de *plasma*; corrida 5, suero normal; corrida 6, deficiencia de inmunoglobulina (γ baja); corrida 7, síndrome nefrótico (aumento de macroglobulina α_2, albúmina e Ig bajas); corrida 8, muestra hemolizada (aumento de hemoglobina-/haptoglobina en la región α_2); corrida 9, incremento policlonal de las Ig (p. ej., infecciones o enfermedad autoinmune); corrida 10, suero normal. (Gel cedido gentilmente por el señor A. Heys.)

Enfermedad de cadenas pesadas

La enfermedad de cadenas pesadas es un trastorno poco frecuente en el cual se excretan cantidades anormales de cadenas pesadas por la orina (cadenas γ asociadas con linfoma maligno y cadenas α en los casos de linfoma abdominal con infiltración linfoplasmocítica difusa del intestino delgado). Las secuencias de aminoácidos de las regiones N-terminales de estas cadenas pesadas son normales, pero carecen de una porción que se extiende desde parte del dominio variable hasta la mayoría de la región C_H1, por lo que falta la estructura requerida para formar enlaces cruzados con las cadenas livianas. Una teoría propone que el defecto se debe a deficiencias en el acoplamiento de los genes de las regiones *V* y *C* (véase pág. 48).

Inmunodeficiencia secundaria a trastornos linfoproliferativos

La inmunodeficiencia es una característica común de los pacientes con neoplasias malignas linfoides. Aún se desconocen las causas, pero las células malignas parecen interferir en el desarrollo de las células normales correspondientes, casi como si produjeran alguna chalona específica de las células (inhibidora) o transfectaran un factor supresor. En consecuencia, en el mieloma múltiple pueden estar muy deprimidos los niveles de células B normales y de Ig distinta del mieloma, y el paciente puede mostrar susceptibilidad a infecciones por bacterias piógenas.

ENFOQUES INMUNOTERAPÉUTICOS DEL CÁNCER

Si bien la vigilancia inmunitaria sólo parece operar contra tumores muy inmunógenos, la interesante información nueva sobre la antigenicidad de las proteínas mutantes, o que antes eran silenciosas, y los cambios en la estructura de los hidratos de carbono debieran ser una fuente muy estimulante para cualquier investigador con sangre en las venas dispuesto a desarrollar nuevas terapéuticas inmunológicas contra el cáncer que aproveche el ya numeroso caudal de antígenos disponibles en la actualidad (cuadro 18-2).

Todos los autores coinciden en un punto: para que una terapéutica inmunológica tenga éxito, es esencial disminuir antes la carga tumoral mediante cirugía, radioterapia o quimioterapia, dado que no sólo es irracional pretender que el sistema inmune pueda vencer una gran masa tumoral; además, la diseminación de cantidades considerables de antígeno tiende a impedir la generación de respuestas significativas, en algunos casos debido a la estimulación de células T supresoras. Así, el blanco adecuado de la terapéutica inmunológica son los pequeños depósitos secundarios.

Terapéutica con citocinas independiente de antígenos

Se han logrado éxitos esporádicos mediante el uso de componentes del sistema inmune para la terapéutica independiente del antígeno.

Tratamiento con interleucinas

Tras la activación mediante IL-2 o IL-12, las células NK pueden destruir diversas células tumorales nuevas in vitro y, de acuerdo con estudios en ratones con glándulas mamarias portadoras del oncogén HER-2/*neu*, se justifica llevar adelante una investigación sobre el tratamiento sistemático con IL-12 en pacientes con cáncer que presenten una enfermedad residual mínima, para intentar prevenir las recurrencias e inhibir las metástasis incipientes.

Cuadro 18-2. *Antígenos tumorales susceptibles de inmunoterapéutica. (Reproducido con autorización de Fong L & Engleman EG (2000) Dendritic cells in cancer immunotherapy.* Annual Review of Immunology *18*, 245)

Antígeno	Neoplasia maligna
Específico de tumor	
Región V de inmunoglobulinas	Linfoma no Hodgkin de células B, mieloma múltiple
Región V de TCR	Linfoma no Hodgkin de células T
Mutante p21/ras	Cáncer de páncreas, de colon y de pulmón
Mutación de p53	Cáncer colorrectal, de pulmón, de vejiga, de cabeza y de cuello
De desarrollo	
Producto de fusión de p210/bcr-abl	Leucemia mielógena crónica, leucemia linfoblástica aguda
MART – 1/Melan A	Melanoma
MAGE-1, MAGE-3	Melanoma, cáncer colorrectal, de pulmón y gástrico
Familia GAGE	Melanoma
Telomerasa	Diversas
Viral	
Papilomavirus humano	Cáncer de cérvix y de pene
Virus de Epstein-Barr	Linfoma de Burkitt, carcinoma nasofaríngeo, trastornos linfoproliferativos postrasplante
Específico de tejido	
Tirosinasa	Melanoma
gp100	Melanoma
Fosfatasa ácida prostática	Cáncer de próstata
Antígeno prostático específico	Cáncer de próstata
Antígeno de membrana prostático específico	Cáncer de próstata
Tiroglobulina	Cáncer de tiroides
α-fetoproteína	Cáncer de hígado
Expresado en exceso	
Her-2/*neu*	Cáncer de mama y de pulmón
Antígeno carcinoembrionario	Cáncer colorrectal, de pulmón y de mama
Muc-1	Cáncer colorrectal, de páncreas, de ovario y de pulmón

Tratamiento con interferón

En estudios con IFNα e IFNβ se observó un índice de respuesta objetiva del 10-15% en pacientes con carcinoma renal, melanoma y mieloma, alrededor del 20% de respuesta entre pacientes con sarcoma de Kaposi, cerca del 40% de respuestas positivas en pacientes con diversos linfomas y un notable índice de respuestas, del 80-90%, entre pacientes con leucemia de células vellosas y micosis fungoide.

Respecto de los mecanismos de los efectos antitumorales, en principio en algunos tumores los IFN actúan como agentes antiproliferativos; en otros puede tener importancia la activación de las células NK y los macrófagos, mientras que el incremento de la expresión de moléculas CMH clase I puede hacer que los tumores se tornen más susceptibles al control de los mecanismos efectores inmunitarios. En algunas circunstancias el efecto antiviral también contribuye.

En patologías como el cáncer de células renales y la leucemia de células vellosas los IFN inducen respuestas en una proporción significativamente mayor de pacientes que las terapéuticas convencionales. Sin embargo, en un sentido más amplio la mayoría de los investigadores prefiere la terapéutica combinada, por ejemplo con inmunoterapia activa o diversos agentes quimioterapéuticos con los cuales se ha observado acción sinérgica en sistemas tumorales murinos. IFNα e IFNβ son sinérgicos con IFNγ y este último tiene acción sinérgica con TNF. IFNα actúa como sensibilizador de radiaciones y su capacidad para incrementar la expresión de los receptores de estrógeno, en células de cáncer de mama cultivadas, sugiere la posibilidad de combinar IFN con antiestrógenos en esta patología.

Factores estimuladores de colonias

El desarrollo de las células normales comienza a partir de una célula madre inmadura con capacidad para autorrenovación ilimitada, continúa con progenitores comprometidos y finaliza con las células diferenciadas específicas de linaje final, con muy escaso o nulo potencial de autorrenovación. La terapéutica dirigida a inducir la diferenciación de las células tumorales se basa en el concepto de que la inducción de la maduración celular disminuye y posiblemente frena la capacidad de dividirse que presenta el clon maligno. Desde este punto de vista, con el GM-CSF se demotró incrementar la diferenciación, disminuir la capacidad de autorrenovación y suprimir la leucemogenicidad de las leucemias mieloides murinas. Se están llevando a cabo estudios con productos recombinantes humanos.

Han pasado más de 100 años desde que el doctor Coley dio su nombre a la mezcla de productos microbianos denominada **toxina de Coley**. Sin duda esta mezcla estimula el sistema inmune innato y produce remisiones en algunos pacientes. Se sugirió que estos efectos beneficiosos se deben a la liberación de TNF, dado que el endotelio vascular de los tumores es muy susceptible a la lesión por esta citocina y se produce necrosis hemorrágica con facilidad. Hay dudas respecto de la posibilidad de que se alcancen niveles críticos de TNF en seres humanos, dado que serían muy tóxicos, pero un estudio sobre la perfusión de un miembro aislado, con TNF, IFNγ y melfalán, provocó lesiones en el endotelio tumoral sin afectar la vasculatura normal. La opinión predominante prefiere avalar el punto de vista de que el fenómeno Coley estaría más relacionado con la ampliación de la inmunidad antitumoral débil preexistente.

Aprovechamiento de las respuestas inmunes celulares

El dogma actual sostiene que las células T, y no los anticuerpos, pueden atacar los tumores sólidos, en particular los que expresan antígenos intracelulares procesados sobre su superficie, y dado que la mayoría son negativos para CMH clase II, parecieran tender en esencia a las respuestas de células T citotóxicas CD8, si bien las células T CD4 pueden intervenir en las reacciones protectoras contra la vasculatura asociada a tumores.

Tumores inducidos por virus

Sobre la base de la razonable concepción de que ciertas formas de cáncer (p. ej., linfomas) son causadas por virus oncogénicos, se intentó aislar los virus y preparar vacunas adecuadas. De hecho se logró la protección en gran escala de pollos contra el desarrollo de linfoma de enfermedad de Marek mediante la vacunación con otro virus herpes nativo de pavos. Respecto del linfoma de Burkitt humano, se están llevando a cabo trabajos tendientes a desarrollar una vacuna que utilice la capacidad de las células Tc de dirigirse a **antígenos relacionados con EBV** en las células de todos los tumores de Burkitt. Se podría mejorar el pronóstico mediante el tratamiento simultáneo del paciente con citocinas, para estimular la expresión de ICAM-1, LFA-3 y quizá del virus.

Inmunización con células tumorales enteras

Este método tiene la ventaja de que no es necesario conocer el antígeno que interviene. La desventaja radica en que la mayoría de los tumores son inmunógenos débiles y no presentan el antígeno en forma efectiva, por lo que no pueden superar la **barrera de activación de *las células T en reposo*.** Cabe recordar que no basta el complejo de superficie CMH-péptido; para que la célula T en G0 comience a proliferar y a diferenciarse en forma activa; se requiere la coestimulación con moléculas tales como B7-1 y B7-2, y quizá también ciertas citocinas. Pero una vez en este estadio, **la célula T activada ya no requiere estimulación accesoria** para reaccionar con el blanco, por el que muestra una avidez mucho mayor debido a la estimulación a través de moléculas fijadoras accesorias, como por ejemplo CD2 y LFA-1 (véase pág. 184; fig. 18-9). El sistema es eficaz. La vacunación con melanoma murino transfectado con B7 genera efectores citolíticos CD8$^+$ que confieren protección contra posteriores enfrentamientos con el tumor; en otras palabras, la transfección permite que las células de melanoma presenten sus propios antígenos con eficiencia, mientras que las células no transfectadas son blancos vulnerables para las células T citotóxicas así obtenidas. Otra observación sugiere que una línea de melanoma no inmunógena irradiada, que ha sido transfectada con un vector retroviral portador del gen *GM-CSF* estimula una inmunidad antitumoral poderosa y específica, casi con seguridad debidas a la estimulación de la diferenciación y la activación de las células presentadoras de antígeno del huésped. Un enfoque menos sofisticado pero más conveniente, que en última instancia se basa en mecanismos similares, es la administración de las células de melanoma irradiadas y BCG, que al generar una plétora de citocinas inflamatorias aumenta la eficiencia de la presentación de antígenos tumorales derivados de las células necróticas. En un estudio en gran escala sobre más de 1.500 pacientes, 26% de los vacunados estaban vivos después de 5 años, en comparación con sólo 6% de los tratados con la mejor terapéutica convencional disponible. Cabe suponer que en el futuro será posible exponer un tumor mediante cirugía y luego transfectarlo in situ con partículas de oro (véase pág. 343) portadoras de las construcciones génicas adecuadas, por ejemplo B7, IFNγ (para estimular CMH clases I y II), GM-CSF, IL-2, etc. (fig. 18-9). Existe un riesgo real de inducir respuestas autoinmunes contra epítopos crípticos (véase pág. 465) compartidos con otros tejidos normales, que no serán pasados por alto por investigadores prudentes.

Terapéutica con vacunas de subunidades

Debido a la variedad de blancos proteicos posibles identificados hasta el presente (cuadro 18-2) ha sido necesario invertir montos considerables en estudios terapéuticos clínicos con péptidos como vacunas. A causa de los trabajos pioneros en la determinación de antígenos específicos de melanoma, este tumor pasó a ser el objeto de numerosos estudios que explotan al máximo los fundamentos académicos de la inmunología moderna. Se obtuvieron resultados alentadores, en términos de beneficios clínicos, relacionados con la generación de células T citolíticas (CTL), tras la vacunación con péptidos que forman complejos con proteínas de shock térmico o modificados en los residuos de anclaje de clase I para mejorar la unión con el CMH. La inclusión de factores accesorios, por ejemplo IL-2 o GM-CSF, y el **bloqueo CTLA-4** pueden ser esenciales para tener éxito. Las vacunas peptídicas con potencial de inducir tolerancia se pueden convertir en fuertes cebadores de respuestas CTL, al activar CD40 mediante un anticuerpo que forma enlaces cruzados y capaz de sustituir la célula T en la activación directa de CTL (fig. 18-10). También se demostró que el tratamiento con anti-CD40 sólo confiere protección parcial a ratones portadores de células de linfoma *CD40 negativos*, efecto atribuido a la activación de células dendríticas endógenas presentadoras de antígeno (véase fig. 18-9).

El **idiotipo** singular de los tumores de células B monoclonales es un blanco ideal para la inmunoterapia. Si bien cabría esperar que las secuencias exclusivas de las asas hipervariables CDR sean las candidatas evidentes, un estudio reveló que los péptidos derivados del **armazón de inmunoglobulina** actúan como epítopos CTL comunes expresados. La ventaja radica en que no es necesario sintetizar un péptido de idiotipo individual para cada paciente, mientras que las mutaciones del determinante idiotípico, que permiten que el tumor obvie la respuesta inmunitaria, tienen lugar con una frecuencia mucho menor con un péptido del armazón. Aún no es posible predecir si este enfoque será el preferible en última instancia a los que utilizan vacunas scFv. Una construcción de DNA de un tumor scFv fusionado con una secuencia derivada del patógeno de toxina tetánica confirió una excelente inmunidad protectora contra un mieloma murino; no había Ig de superficie en las células tumorales y la protección debía tener lugar a través de la reacción del idiotipo procesado que forma complejos con CMH a través de células CD4 y CD8.

Como anticipación al uso más difundido de DNA desnudo en la terapéutica inmunitaria, se estimula la inmunogenicidad al permitir que la vacu-

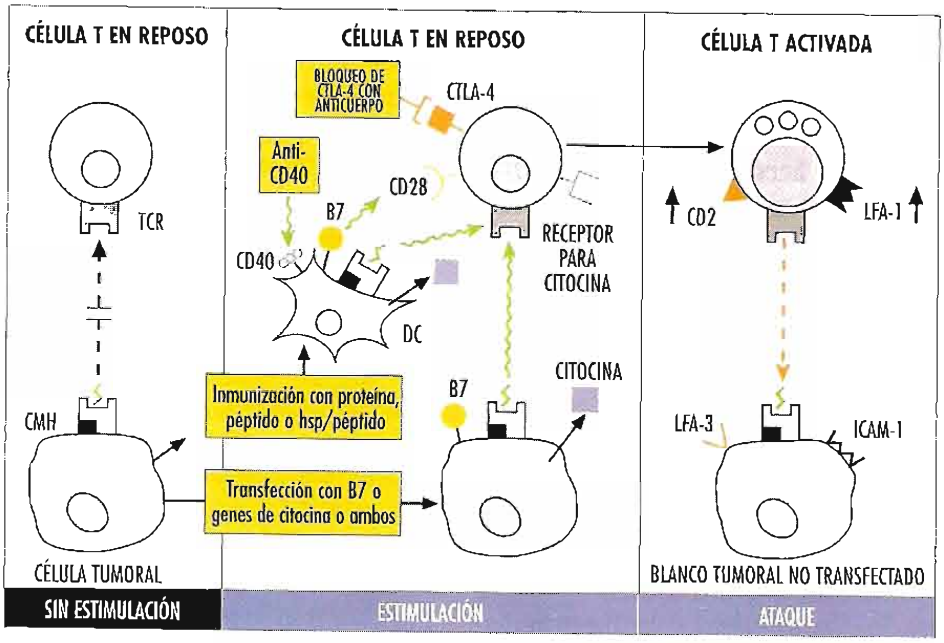


Fig. 18-9. Inmunoterapéutica mediante la transfección con moléculas coestimuladoras. El tumor sólo puede estimular la célula T con la ayuda coestimuladora de B7-1 y B7-2 o citocinas como GM-CSF, interferón-γ y diversas interleucinas, IL-2, IL-4 e IL-7. El bloqueo de CTLA-4 aumenta la inmunogenicidad. Como alternativa las células T se pueden estimular en forma directa, mediante antígenos tumorales presentados por células dendríticas (DC), que a su vez son activadas al formar enlaces cruzados entre el CD40 de superficie y el anticuerpo (véase más adelante). Una vez activada, la célula T y las moléculas accesorias estimuladas pueden ahora atacar el tumor original carente de coestimuladores.

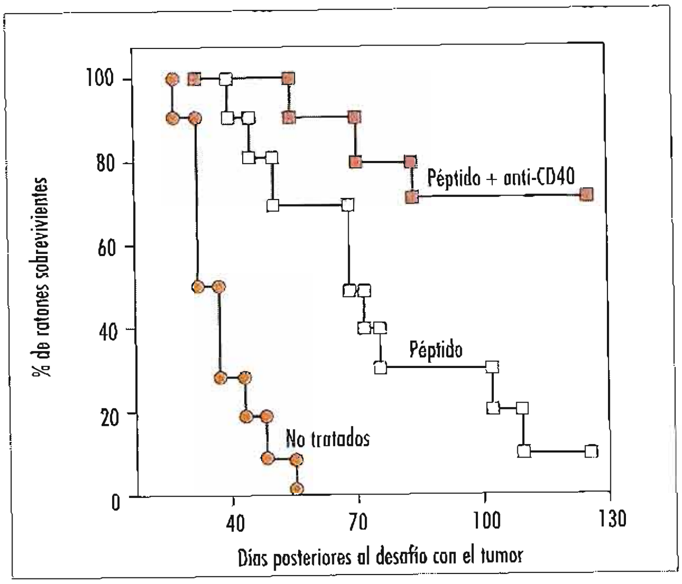


Fig. 18-10. La ligadura de CD40 aumenta el efecto protector de una vacuna peptídica contra un tumor preexistente. Seis días después de inyectar células singénicas transformadas de papilomavirus humano 16 (HPV16) en ratones, los animales se inmunizaron con el péptido HPV16-E7 en coadyuvante incompleto de Freund con un anti-CD40 monoclonal o sin este anticuerpo, o se dejaron sin tratar. (Datos de Diehl L y col. (1999) *Nature Medicine* 5, 774, reproducidos con autorización.)

na se **autorreplique** mediante una construcción con un gen codificador de RNA replicasa proveniente de virus Semliki Forest. La mayor eficacia se correlaciona con la muerte por apoptosis dependiente de caspasa de las células transfectadas, que facilitan la captación a través de las células dendríticas. Al mismo tiempo se demostró que la IL-12 es un poderoso adyuvante accesorio. Estas vacunas RNA de alfavirus basadas en replicones no son infecciosas y no se pueden producir reversiones, dado que las construcciones carecen de genes de proteínas; además, dado que no forman intermediarios DNA, hay escasas posibilidades de integración genómica.

El poder de la **célula dendrítica presentadora de antígeno (DC)** para iniciar las respuestas de células T es el eje de una serie, siempre renovada, de estrategias inmunoterapéuticas que han generado respuestas inmunes protectoras específicas de tumor a través de la inyección de DC aisladas, cargadas con lisados tumorales, o antígenos tumorales, o péptidos derivados de ellos. Se lograron importantes éxitos en modelos animales y resultados positivos crecientes en pacientes humanos (fig. 18-11). La gran cantidad de DC requerida para la terapéutica individual de cada paciente se obtiene con la expansión de precursores positivos para CD34 en médula ósea, mediante cultivos con GM-CSF, IL-4 y TNF y, en ocasiones, con mejoras adicionales, como el factor de células madre (SCF) y el ligando de tirosina cinasa 3 del tipo Fms (Flt3). Los monocitos positivos para CD14 en sangre periférica son más accesibles y generan DC en presencia de GM-CSF más IL-4; sin embargo, requieren maduración adicional con TNFα, lo que incrementa los costos y las probabilidades de contaminación bacteriana. Otro enfoque implica expandir las DC in vivo, mediante la administración de ligando Flt3. Las DC en el torrente sanguíneo aumentan en número unas 10-30 veces y se pueden recoger por leucoforesis.

Es necesario tener en cuenta ciertas cuestiones. Primero, cuando para cargar las DC se utilizan péptidos se deben identificar las secuencias que se unen con fuerza a determinado haplotipo del CMH clase I, y que varían de acuerdo con los distintos haplotipos de los pacientes, por lo que puede que no incluyan posibles epítopos helper CD4. Las proteínas recombinantes superan la mayoría de estas dificultades y con una mezcla se obtienen resultados aun mejores, dado que están en condiciones de reclutar más CTL y tienen capacidad para superar cualquier mutación antigénica tumoral nueva. Pero las proteínas captadas por las DC son poco eficientes en la programación cruzada de CTL CD8 a través de la vía de procesamiento de clase I, si bien se han explorado varias tácticas para superar este problema, entre ellas la conjugación con un péptido transportador HIV-tat, que aumenta la presentación de clase I en 100 veces, y la transfección con RNA y vectores recombinantes como la viruela aviaria. Segundo, el proceso es elaborado y costoso, pero si se realiza con frecuencia puede tornarse habitual; de todos modos es necesario comparar los costos con los gastos de la terapéutica convencional y los inconmensurables beneficios para el paciente. Tercero, cabe preguntarse por qué la administración de pequeñas cantidades de DC pulsadas por antígenos inducen respuestas específicas de células T y la regresión de tumores en pacientes en los cuales ya son abundantes los antígenos y las DC. Se sugirió que las DC de los tejidos malignos o sus adyacencias podrían ser defectuosas, quizá debido a la secreción de factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) o IL-10. Sin duda será interesante poder determinar si el tratamiento directo de pacientes con ligando Flt3 más las citocinas accesorias o la transfección intratumoral con MIP-3α (CCL20) (véase pág. 210), que atrae DC inmaduras, puede iniciar una respuesta antitumoral a través de la maduración y la activación de DC endógenas.

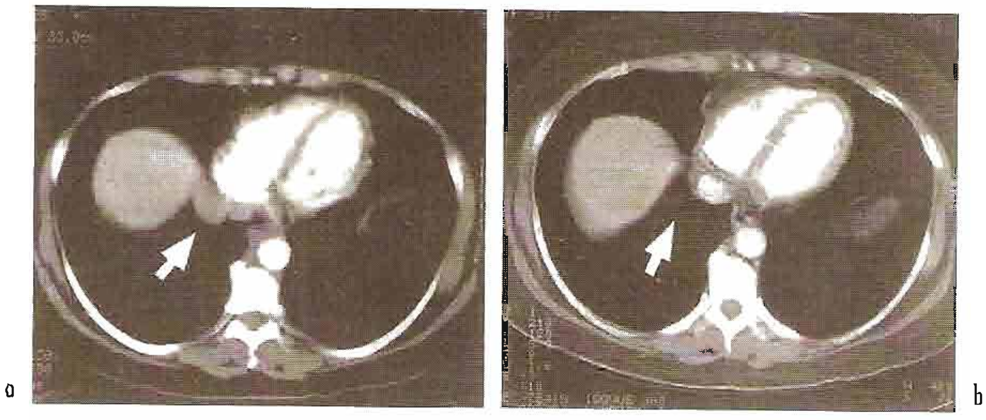


Fig. 18-11. Respuesta clínica a una vacuna autóloga de células dendríticas pulsadas con idiotipo de un linfoma de células B. Tomografía computarizada a través del tórax de un paciente, a) antes de la vacuna y b) 10 meses después de completar tres tratamientos con vacuna. La flecha en a) señala una masa paracardíaca. Todos los sitios con enfermedad se han resuelto y el paciente se mantuvo en remisión 24 meses después de comenzar el tratamiento. (Fotografía cedida gentilmente por el profesor R. Levy, del artículo de Hsu FJ et al. (1996) *Nature Medicine* 2, 52; reproducido con autorización de Nature America Inc.)

Tratamiento de leucemias

El tratamiento citoablativo radical de los pacientes leucémicos, mediante radioquimioterapéutica, destruye las células madre de la médula ósea, que se pueden extraer antes del tratamiento, purgar con anticuerpos citotóxicos para eliminar las células leucémicas y reubicar más tarde para "recuperar" al paciente (fig. 18-12). Sin embargo, este tratamiento no elimina todas las células leucémicas; una estrategia más efectiva es el trasplante de médula ósea *alogénica* de donantes con CMH razonablemente compatible, que ejercen un efecto injerto versus huésped importante aunque no muy bien entendido. El proceso de purgar la médula ósea para eliminar las células T y así impedir la enfermedad injerto versus huésped (i.v.h.), que representa una seria complicación de estos trasplantes, extrae al mismo tiempo la ponderada actividad antileucémica, por lo que se plantea un dilema. La "terapéutica de genes suicidas" podría brindar una solución, como se ilustra en la figura 18-13. Las células madre de la médula ósea alogénica purgada de células T se administran junto con células T del donante transfectadas con timidina cinasa de virus herpes simple. Las células T brindan los factores que facilitan la aceptación del injerto, la defensa contra la infección viral y la acción injerto versus leucemia en un momento en que el paciente receptor tiene baja carga tumoral. Con el tiempo, a medida que se desarrolla la enfermedad injerto versus huésped, las células T del donante agresor en proceso de división se pueden inactivar mediante la administración de ganciclovir, por el mecanismo explicado en el epígrafe de la figura 18-13.

Una alternativa que evita por completo la enfermedad i.v.h. incluye la inyección de médula ósea purgada junto con un clon de células T citotóxicas alogénicas, específicas para un péptido asociado

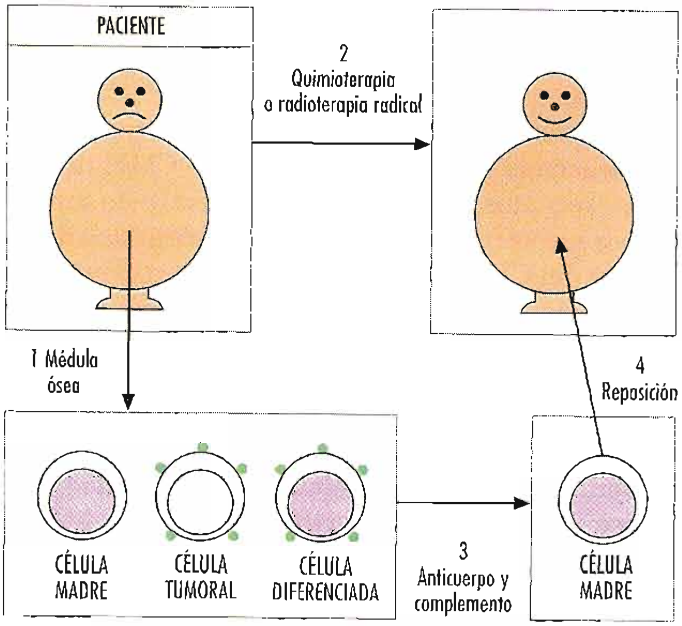


Fig. 18-12. Tratamiento de leucemias por rescate de médula ósea autóloga. Mediante anticuerpos citotóxicos contra un antígeno de diferenciación (●) presente en células leucémicas, e incluso en otras diferenciadas normales, pero ausentes en las células madre, es posible obtener una población libre de tumores de estas últimas que se puede utilizar para restablecer la función hematopoyética en pacientes tratados después en forma radical, para destruir las células leucémicas. Otro enfoque implica la selección positiva de células madre mediante el marcador CD34.

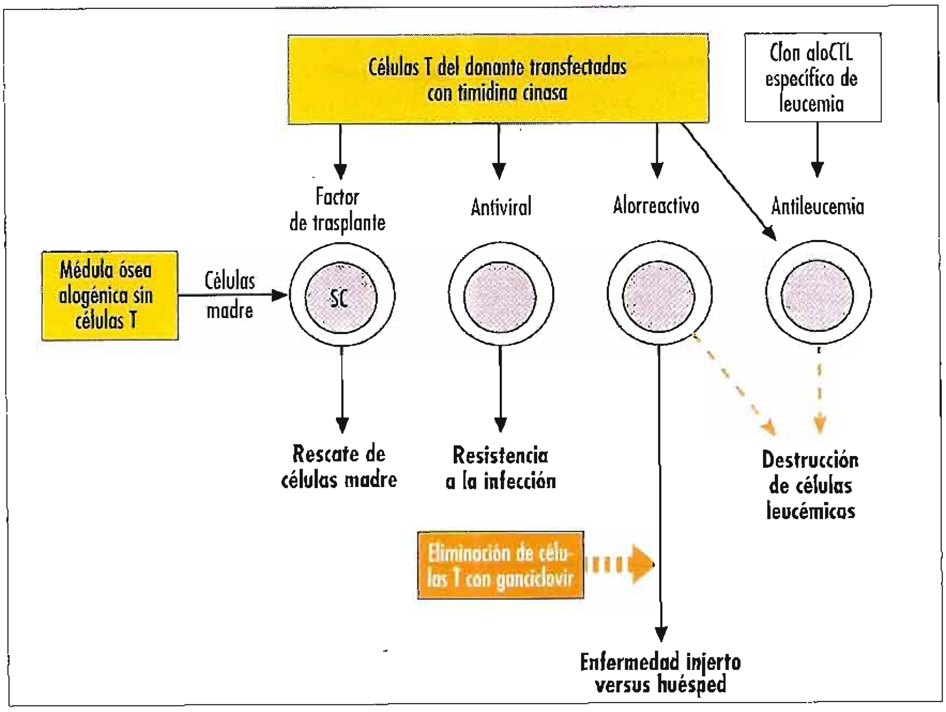

Células T del donante transfectadas con timidina cinasa
Clon aloCTL específico de leucemia
Factor de trasplante
Antiviral
Alorreactivo
Antileucemia
Médula ósea alogénica sin células T
Células madre
SC
Rescate de células madre
Resistencia a la infección
Destrucción de células leucémicas
Eliminación de células T con ganciclovir
Enfermedad injerto versus huésped

Fig. 18-13. **Tratamiento de leucemias por transferencia de médula ósea alogénica.** La médula alogénica sin células T proporciona las células madre para "rescatar" al paciente tratado con terapéutica citoablativa. Las células T provenientes del donante y transfectadas con timidina cinasa (TK) contribuyen a la incorporación del injerto, proveen protección contra las infecciones y eliminan las células tumorales residuales a través de un efecto injerto versus leucemia. Por último, las células alorreactivas producen enfermedad injerto versus huésped y pueden eliminarse mediante la administración de ganciclovir. Este medicamento es convertido por la TK en un análogo nucleósido, que finalmente se torna tóxico para las células en proceso de división. Se muestra la alternativa de destruir las células leucémicas mediante la incorporación de médula alogénica purgada con un clon CTL específico de péptido de leucemia, producido en células T de un tercero. (Basado en artículos de Cohen JL, Boyer O & Klatzmann D (1999) *Immunology Today* 20, 172; y Strauss HJ (1999) *Immunology Today* 20, 180.)

con leucemia presentado por el alelo CMH del paciente receptor potencial. Por lo general esto funciona porque se mantienen bastante los residuos de las hélices del CMH que hacen contacto con el receptor de células T (a diferencia de las del interior de la hendidura); entonces las células alogénicas pueden reconocer el complejo CMH-péptido de la leucemia. Son blancos potenciales la ciclina D1 y mdm-2, que se expresan en exceso en las células tumorales y sobre todo en las leucémicas, los factores de transcripción WT-1 y GATA1, y los antígenos de diferenciación mieloperoxidasa y CD68, que sólo se expresan en las células hematopoyéticas, con probabilidad de establecer tolerancia en el paciente, pero no en el donante de CTL alogénico (que habrán estado expuestos a distintos péptidos procesados) (véase pág. 403). Un desarrollo casi magistral sería la transfección del receptor con los genes codificadores del receptor de las células T del clon de CTL alogénico. También en este caso se piensa que en el futuro la transfección de células T in vitro con una construcción humanizada del segmento CD3ζ scFv-Fcγ transmembrana podrá transformarlas en citotóxicas para las células que expresan el antígeno de superficie.

Terapéutica con anticuerpos monoclonales

Estrategias

Los anticuerpos que reaccionan con los antígenos de la superficie de las células tumorales pueden proteger al huésped por opsonización y lisis mediada por complemento (modificadas por las proteínas reguladoras del complemento del huésped) y a través del reclutamiento de macrófagos y de la función CCDA de las NK, al comprometer los receptores Fc-γRIII, si bien para los macrófagos se contraponen en parte las señales inhibitorias de FcγRII. Estas células portadoras de FcR actúan como efectores citotóxicos y como superficies multivalentes, cuyas células blanco recubiertas por anticuerpo forman gran cantidad de enlaces cruzados, por lo que en muchos casos representan una señal transmembrana que induce la apoptosis o el egreso prematuro del ciclo celular. Este efecto parece sensibilizar las células neoplásicas a la irradiación y la quimioterapia que lesiona el DNA y sugiere la interesante perspectiva de nuevos tratamientos sinérgicos, cuya eficacia podría incrementarse por la mayor inmunogenicidad de las células en proceso de muerte.

Durante mucho tiempo los inmunólogos intentaron eliminar las células tumorales mediante un anticuerpo específico ligado a una molécula *killer* y hay un notable espectro de iniciativas ingeniosas. Se parte del axioma de que los fragmentos multiméricos se unen con una avidez mucho mayor que los fragmentos monoméricos, sobre todo debido a los menores índices de separación (véase pág. 98), y que las construcciones entre 60-120 kDa son óptimas cuando los blancos son tumores sólidos, demasiado grandes y de difícil penetración, pues son muy pequeñas y se secretan con mucha rapidez por la vía renal. Entre los fragmentos monovalentes se cuentan Fv, scFv seleccionado por el antígeno de bibliotecas de fagos (véase pág. 137) y los dominios V_H basados en las grandes asas CDR de camellos y llamas. Para los polímeros existen dicuerpos bivalentes y biespecíficos (obsérvese la diferencia) (véase pág. 138), tricuerpos trivalentes y triespecíficos, e incluso tetracuerpos; los Fabs se han unido para formar dímeros y trímeros.

La radioinmunoterapia que emplean isótopos como ^{90}Y, ^{111}In o ^{131}I ligado a anticuerpo libera dosis de radiación al tejido tumoral que serían tóxicas en grado imposible de tolerar para las fuentes de rayos externos. Los resultados son aún mejores cuando se utilizan en forma sinérgica con la quimioterapia. Las inmunotoxinas son otra clase de balas mágicas, en las cuales la toxina, de origen vegetal o bacteriano, se adhiere a un anticuerpo o factor de crecimiento; tras la unión con la superficie celular se incorpora la toxina, que destruye la célula por inhibición catalítica de la síntesis de proteínas. De modo similar, la incorporación de un fotosensibilizador torna a las células vulnerables a la terapéutica fotodinámica. La liberación de fármacos antineoplásicos por adhesión de anticuerpos podría parecer un objetivo obvio, pero la estrategia más sofisticada incluye la terapéutica con prodroga enzimática dirigida contra anticuerpo (ADEPT). Tras la inyección de la prodroga cada conjugado de enzima y anticuerpo, adherido a su blanco celular, elabora gran cantidad de moléculas tóxicas pequeñas capaces de difundirse en el interior de la masa tumoral y proporcionar además un efecto complementario sobre las células tumorales adyacentes, incluso cuando sólo expresan bajas concentraciones de antígeno. Uno de los conjugados empleados es la aminopeptidasa que actúa sobre 2-L-piroglutamil metotrexato para liberar metotrexato.

Resultados clínicos

Se lograron respuestas útiles con anticuerpos monoclonales no modificados, entre los que se incluyen anti-Her-2 (un receptor de factor de crecimiento epidérmico denominado erbB2 y neu) para el cáncer metastásico de mama, anti-CD52 (Campath-1H) para diversos tumores hemáticos y 17-1A para cáncer colorrectal.

El anti-CD20 marcado con ^{131}I elimina los linfomas de células B por CCDA y apoptosis inducida por señales, al actuar en forma sinérgica con el daño del DNA debido a radiaciones γ, quizá con una contribución de la mayor inmunogenicidad tumoral. La terapéutica con este agente ha tenido un éxito excepcional; en un estudio de largo plazo, la inyección del anti-CD20 con marca radiactiva en pacientes con linfoma preparados mediante mieloablación con rescate de células madre dio respuestas importantes en el 86%, con remisiones que duraron entre 27 y 87 meses. De modo similar, los conjugados de radioisótopos de un anti-CD33 humano son muy activos contra la leucemia mieloide y pueden eliminar de raíz grandes cargas tumorales. Los estudios con ^{90}Y-anti-MUC-1 en cáncer de ovario estimulan aun más a los intrépidos inmunoterapistas.

Acción sobre la irrigación sanguínea del tumor

Con los tumores sólidos la atención se centra sobre dos blancos principales. El primero es lograr **micrometástasis residuales mínimas en la médula ósea**, como se observa en el 33-50% de los pacientes con cáncer epitelial, tras el tratamiento curativo radical de la lesión primaria. El segundo es el **tejido reactivo evocado por el proceso maligno**, por ejemplo los fibroblastos de la estroma que expresa la glucoproteína F19 y los vasos sanguíneos recién formados.

Por lo general los tumores no crecen más de 1 mm de diámetro sin el sostén de vasos sanguíneos y, dado que el tumor es tejido nuevo, su vasculatura también debe serlo. Estos vasos se forman por el proceso denominado **angiogénesis**, o sea el brote de vasculatura nueva a partir de los vasos existentes, pero con estructura y bioquímica diferente de los vasos en reposo; por lo tanto, son blancos diferenciales para los anticuerpos monoclonales terapéuticos, si bien las células cancerosas de un tumor sólido son menos vulnerables frente a los anticuerpos dirigidos contra antígenos específicos en su superficie. En consecuencia, los receptores para VEGF y Eph, la fibronectina oncofetal, las metaloproteasas de la matriz MMP-2 y MMP-9, y los marcadores de pericitos aminopeptidasa A y el proteoglucano NG2 se expresan todos en gran cantidad y en forma selectiva en la vasculatura que presenta angiogénesis.

Una notable maniobra que ha dado éxitos inesperados es la identificación de péptidos con especificidad para las células endoteliales de ciertos tumores, mediante la inyección de bibliotecas de fagos peptídicos in vivo. Uno de los motivos peptídicos del panel que ha emergido de esta estrategia de sondas, incluye RGD en el péptido cíclico CDCRGD-CFC, un fijador selectivo de las integrinas $\alpha_V\beta_3$ y $\alpha_V\beta_5$ que aumentan en las células endoteliales de los tumores angiogénicos. Con fines terapéuticos, estos péptidos se pueden ligar a fármacos adecuados, por ejemplo doxorrubicina o un péptido proapoptósico. Sin duda hay cantidades importantes de blancos para las "balas mágicas".

INMUNODIAGNÓSTICO DE TUMORES SÓLIDOS

Marcadores tumorales circulantes y celulares

El análisis de sangre para la determinación de antígenos oncofetales, α-fetoproteína en hepatoma y antígeno carcinoembrionario en tumores de colon proporcionaron información diagnóstica valiosa, pero el entusiasmo se vio limitado por la elevada incidencia de los denominados "falsos positivos". La reaparición de estas proteínas tras la extirpación quirúrgica del primario es un fuerte indicio de nuevo crecimiento tumoral. Un incremento notable de la relación entre antígeno prostático específico libre y ligado (PSA) en sangre puede indicar cáncer de próstata. Se ha demostrado la presencia de monosialogangliósido GM1 en la sangre del 96% de los pacientes con carcinoma de páncreas y en el 64% de los pacientes con carcinomas colorrectales, en oposición del 2% en personas normales.

La identificación del tipo celular por los anticuerpos monoclonales tiene valor para el diagnóstico y el tratamiento de una cantidad creciente de tumores, entre ellos los trastornos linfoproliferativos ya descritos (véase pág. 436).

Imágenes tumorales in vivo

Los mismos principios que gobiernan la ubicación de los anticuerpos monoclonales para la terapéutica tumoral se aplican a las imágenes. Se busca inducir el máximo de fijación al tumor, respecto del tejido normal y los líquidos circundantes. Por ejemplo, se puede rastrear el uso de un anticuerpo bifuncional con blanco en el tumor y un isótopo quelante a las 24-120 horas después, mediante el radioisótopo con el quelato que permite la eliminación del anticuerpo no combinado.

El antígeno de Thomson-Friedenreich (T) (Galβ1-3-GalNAcα-O-Ser) expresado en las mucinas de diversos tipos de cáncer de epitelio es un blanco muy exitoso para las imágenes de anticuerpos. Lo mismo ocurre con la glucoproteína F19, asociada con los fibroblastos en proliferación de la estroma de numerosos carcinomas, y posiblemente también tenga lugar con los muchos antígenos asociados con la angiogénesis tumoral.

Detección de micrometástasis en médula ósea

Debido a la dificultad para detectar células tumorales aisladas en órganos distantes, no ha sido posible el diagnóstico de cáncer diseminado temprano, también se han obstaculizado los intentos tendientes a identificar los estadios iniciales y a controlar la inmunoterapéutica de la enfermedad. Se logró un importante avance cuando se demostró la presencia de micrometástasis mediante inmunocitoquímica en la

Cuadro 18-3. *Detección de micrometástasis en médula ósea mediante tinción para citoqueratina epitelial en pacientes con cáncer colorrectal. (Según datos de Schlimok G. y col. (1990)* Journal of Clinical Oncology **8**, *831.)*

Estadio de Duke		Reacción positiva con mAc CK2 para citoqueratina en aspirado de médula ósea	
		N° de pacientes	% de positivos
A	Limitado a mucosa	3	0
B	Se extiende a la muscular propia	58	14
C	Afecta ganglios locales	62	34
D	Con diseminación metastásica a distancia	33	39

médula ósea de pacientes con cáncer colorrectal, y se relacionó con la enfermedad más diseminada (cuadro 18-3) y un elevado índice de recurrencias. El método incluye el análisis de aspirados de médula ósea de la cresta pelviana obtenidos por cirugía de células epiteliales con coloración para citoqueratina (véase fig. 18-7f) y marcadores de proliferación como el antígeno nuclear Ki67 y los receptores para transferrina y factor de crecimiento epidérmico. La detección de micrometástasis en la médula de los pacientes con carcinoma de pulmón de células pequeñas también son indicios de recurrencias tempranas.

RESUMEN

Cambios en la superficie de las células tumorales

- Los péptidos procesados que derivan de virus oncogénicos son poderosos antígenos de trasplante asociados con CMH.
- Algunos tumores expresan genes que son silenciosos en los tejidos normales; a veces se han expresado antes, en la vida embrionaria (antígenos oncofetales).
- Muchos tumores expresan antígenos débiles asociados con mutaciones puntuales en oncogenes, por ejemplo *ras* y *p53*. Los péptidos presentados por las proteínas de shock térmico 70 y 90 son los antígenos singulares inducidos por medios químicos. La Ig de superficie de las células de leucemia linfocítica crónica (LLC) es un antígeno específico exclusivo de tumor.
- A menudo la desregulación de las células tumorales causa anomalías en las estructuras de hidratos de carbono de superficie.
- Algunos cambios de superficie son de por sí consecuencia de la división celular.
- Los exones v6 y v10 de CD44 tienen íntima injerencia en el potencial de metástasis. La pérdida de los determinantes del grupo sanguíneo A induce un mal pronóstico.

Respuesta inmune contra los tumores

- Por lo general las células T montan una vigilancia efectiva contra los tumores asociados con virus oncogénicos o inducción UV muy inmunógena.
- Los tumores inmunógenos más débiles no son controlados por la vigilancia de las células T, aunque en ocasiones se evocan respuestas de bajo grado.
- Es probable que las células NK tengan cierta acción en la contención del crecimiento y las metástasis de los tumores. Pueden atacar las células tumorales negativas para CMH clase I, porque estas moléculas imparten una señal de inactivación negativa a las células NK. El subtipo A-NK expresa niveles elevados de moléculas de adhesión y es más citolítico para las células tumorales nuevas.
- Los tumores utilizan diversos mecanismos para escapar de las respuestas inmunes del huésped.

El desarrollo no regulado da origen a trastornos linfoproliferativos

- La desregulación del protooncogén *c-myc* es una propiedad característica de muchos tumores de células B.
- Son comunes las traslocaciones cromosómicas.
- En las neoplasias malignas linfoides se observa que la maduración se detiene en estadios característicos de la diferenciación.
- Los marcadores de superficie de las leucemias y los linfomas identificados mediante anticuerpos monoclonales son auxiliares importantes del diagnóstico. La mayoría de los linfomas no Hodgkin se originan en células B, se asocian con EBV y expresan una Ig de superficie monoclonal.
- El mieloma múltiple es una proliferación maligna de un único clon de células plasmáticas productoras de una única banda "M" en la electroforesis. El 10-20% presenta depósitos amiloides dispersos que contienen una región variable de la cadena liviana de mieloma.
- La macroglobulinemia de Waldenström se origina por la proliferación no regulada de un clon productor de IgM monoclonal, que causa un aumento marcado de la viscosidad del suero.
- Las células linfáticas malignas producen inmunodeficiencia secundaria al suprimir la diferenciación del correspondiente linaje normal.

Enfoques inmunoterapéuticos del cáncer

- La inmunoterapia sólo puede actuar después de reducir la masa tumoral.
- Es posible circunscribir los mecanismos inmunitarios. La IL-2 sistémica puede ser efectiva contra la enfermedad residual mínima. El IFNα y el IFNβ son muy efectivos en los trastornos de las células T, la leucemia de células ciliadas y la micosis fungoide; tienen menor eficacia, aunque sigue siendo significativa, en sarcoma de Kaposi y diversos linfomas, y se pueden aplicar en forma sinérgica con otras terapéuticas. El GM-CSF incentiva la proliferación y disminuye la leucemogenicidad de las leucemias mieloides murinas.
- Cabe esperar la aparición de vacunas contra el cáncer basadas en proteínas virales oncogénicas.
- Los tumores inmunógenos débiles provocan respuestas anticancerosas efectivas si se administran con un coadyuvante, por ejemplo BCG, o si se transfectan con moléculas coestimuladoras, como B7 y las citocinas IFNγ, IL-2, IL-4, e IL-7. Se prefieren los CTL CD8 para el ataque de los tumores sólidos.
- Se identificaron diversos blancos proteicos potenciales y se realizaron intensos esfuerzos en la investigación de péptidos como vacunas subunitarias. Es posible incrementar su inmunogenicidad a través de la formación de complejos con proteínas del shock térmico y con factores accesorios, como GM-CSF, el bloqueo de CTLA-4 y la estimulación de anti-CD40.
- Son importantes candidatos las vacunas con DNA desnudo y RNA autorreplicante.
- Se crearon poderosos inmunógenos mediante la pulsación de células dendríticas presentadoras de antígeno con péptidos provenientes de antígenos de melanoma y regiones marco de Ig de LLC.
- Se logra un efecto injerto versus leucemia con CTL alogénicos o con trasplante de médula ósea alogénica, junto con medidas para limitar la enfermedad injerto versus huésped.
- Los anticuerpos monoclonales conjugados con toxinas o radioisótopos se pueden dirigir a los blancos de células tumorales o antígenos sobre vasos sanguíneos nuevos o los fibroblastos reactivos de la estroma asociados con la neoplasia maligna. Se lograron resultados terapéuticos alentadores, incluso impresionantes, con anticuerpos contra CD20 en linfoma de células B, CD33 en leucemia mieloide, anti-MUC-1 en cáncer de ovario y expresión excesiva de c-erbB2 en cáncer de mama. Los anticuerpos bifuncionales pueden acercar el blanco tumoral a las células NK y Tc.

Inmunodiagnóstico de tumores sólidos

- Muchos marcadores tumorales circulantes son diagnósticos, por ejemplo α-fetoproteína en carcinoma hepático y antígeno carcinoembrionario en carcinoma colorrectal.
- El anticuerpo monoclonal contra las superficies tumorales puede proporcionar la base para la identificación por imágenes. Son buenos blancos ciertas mucinas tumorales, por ejemplo la glucoproteína F19 en fibroblastos reactivos de la estroma, y VEGF en los vasos nuevos alrededor del tumor.
- La detección de micrometástasis en médula ósea mediante inmunocitoquímica proporciona información valiosa sobre el pronóstico y la eficacia de los tratamientos nuevos.

Véanse preguntas de opciones múltiples en el sitio web correspondiente (www.roitt.com).

LECTURAS ADICIONALES

Begent R.H.J. *et al.* (1996) Clinical evidence of efficient tumor targeting based on single-chain Fv antibody selected from a combinatorial library. *Nature Medicine* **2**, 979.

Blachere N.E. *et al.*(1997) Heat shock protein-peptide complexes, reconstituted in vitro, elicit peptide-specific cytotoxic T-lymphocyte responses and tumor immunity. (Estrategia iniciada por P.K. Srivastava.) *Journal of Experimental Medicine* **186**,1315.

Cancer (2001) *Current Opinion in Immunology* **13**(5). (Revisiones críticas anuales sobre el campo en su totalidad, que vale la pena leer.)

Castellino F. *et al.* (2000) Receptor-mediated uptake of antigen/heat shock protein complexes (by antigen-presenting cells) results in MHC class I antigen presentation via two distinct processing pathways (TAP/pro-

Enfermedades autoinmunes
1. Alcance y etiología

www.el12cirujano.blogspot.com/

Introducción, 453
Alcance de las enfermedades autoinmunes, 453
  Espectro de las enfermedades autoinmunes, 453
  Autoanticuerpos en las enfermedades humanas, 456
  Superposición de trastornos autoinmunes, 456
  Modelos animales de enfermedad autoinmune, 457
Naturaleza y nutrición, 457
  Factores genéticos en la enfermedad autoinmune, 457
  Influencias hormonales en la autoinmunidad, 463
  ¿El medio contribuye?, 464
La autorreactividad es natural, 465
La autoinmunidad ¿es inducida por el antígeno?, 467
  Enfermedad específica de órgano, 467
  Autoinmunidad sistémica, 468
  El autoantígeno ¿está disponible para los linfocitos?, 468
El control de la célula T helper es esencial, 469
La autoinmunidad puede surgir al sortear las células T helper, 469
  Provisión de un nuevo determinante portador, 469
  Mecanismos de desvío del idiotipo, 473
  Activación policlonal, 474
La autoinmunidad puede surgir al sortear los mecanismos reguladores, 475
  Las células reguladoras tratan de amortiguar la autoinmunidad, 475
  La timectomía neonatal elimina autorreguladores potenciales, 475
  Los defectos en la regulación contribuyen a la autoinmunidad espontánea, 476
  Estimulación de las moléculas de interacción con las células T, 478
  El desequilibrio de citocinas puede inducir la autoinmunidad, 478
Los trastornos autoinmunes son multifactoriales, 479
Resumen, 479
Lecturas adicionales, 481

INTRODUCCIÓN

El extraordinario repertorio del sistema inmune adaptativo ha evolucionado hasta permitirle reconocer y atrapar casi cualquier forma de molécula microbiana, presente en la actualidad o en el futuro, y al mismo tiempo no ha podido impedir la generación de linfocitos que reaccionen contra los constituyentes propios del organismo. En gran parte esto se debe a que las células T dependen de cierto grado de autorreconocimiento para que opere la selección positiva durante el desarrollo dentro de la glándula del timo (pág. 257). Ya se analizaron los mecanismos existentes para impedir que estos componentes propios provoquen una respuesta inmune adaptativa, pero, como con cualquier maquinaria, siempre aparece la posibilidad de que estos sistemas se deterioren y, cuanto mayor es la persona, más alta es la probabilidad de que esto ocurra. Sin tener en cuenta los **autoanticuerpos** IgM de baja afinidad (es decir, los anticuerpos capaces de reaccionar con los componentes propios) producidos por las células B CD5$^+$ como parte del espectro "natural" de anticuerpos, que se verá más adelante, en este momento interesan más los fenómenos autoinmunes que aparecen en relación con ciertas enfermedades humanas bien definidas. Sería ideal poder aplicar el término "**enfermedad autoinmune**" a los casos en que es posible demostrar que el **proceso autoinmune contribuye a la patogenia de la enfermedad**, en lugar de las situaciones en las que, tras la lesión tisular, se forman autoanticuerpos inocuos en apariencia, por ejemplo los anticuerpos cardíacos que aparecen tras un infarto de miocardio. Pero en muchas patologías aún no está bien definido el papel de la autoinmunidad y por conveniencia aún se refiere a todas las enfermedades asociadas con la formación de autoanticuerpos como "enfermedades autoinmunes", salvo cuando se puede demostrar que los fenómenos autoinmunes son sólo hallazgos secundarios.

ALCANCE DE LAS ENFERMEDADES AUTOINMUNES

Espectro de las enfermedades autoinmunes

Estas patologías se deben considerar en conjunto. En un extremo del espectro se encuentran las

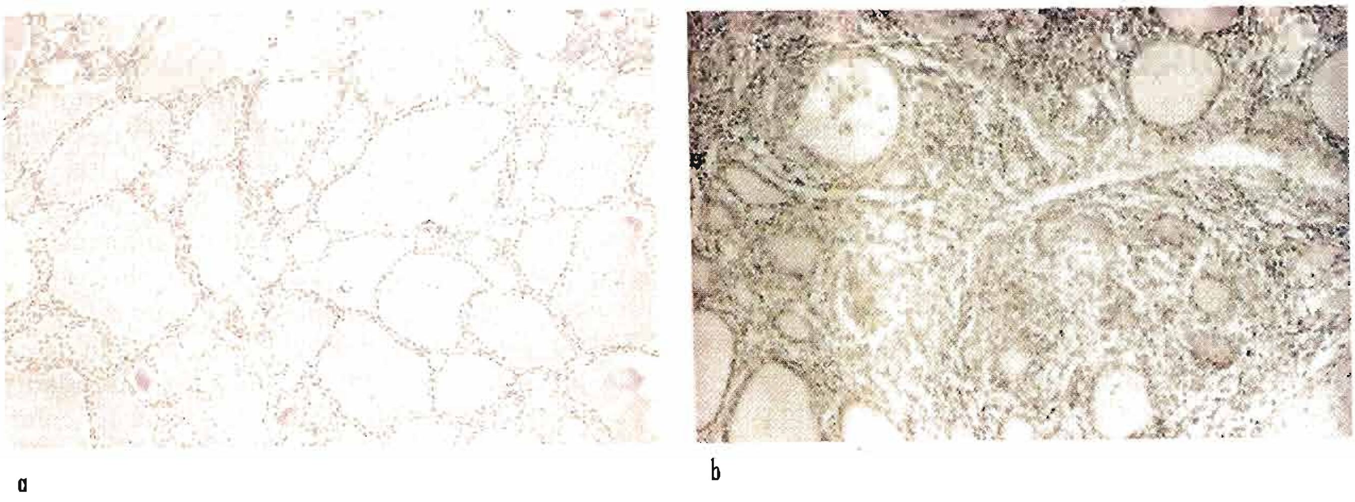
"enfermedades específicas de órgano", con autoanticuerpos específicos de cada órgano. La **enfermedad de Hashimoto** de la glándula tiroides es un ejemplo: hay una lesión específica del tiroides con infiltración de células mononucleares (linfocitos, macrófagos y células plasmáticas), destrucción de células foliculares y formación de un centro germinativo, además de la producción de anticuerpos circulantes de especificidad absoluta para ciertos constituyentes de la glándula tiroides (hito 19-1).

Hito 19-1. Descubrimiento de la autoinmunidad tiroidea

Si bien los estudios de Dacie sobre los autoanticuerpos de los eritrocitos en ciertas formas de anemia hemolítica se encuentran entre los primeros en implicar la autoinmunidad en la patogenia de la enfermedad, recién en la década de 1950 se estableció una relación directa con los trastornos que afectan órganos completos, cuando se publicaron tres trabajos importantes sobre la autoinmunidad tiroidea.

En un intento por confirmar el concepto de Paul Ehrlich de "horror autotoxicus" (el temor del organismo por elaborar anticuerpos contra lo propio) Rose y Witebsky inmunizaron conejos con extracto tiroideo de conejo en coadyuvante completo de Freund. Para lo que se supone fue desilusión de Witebsky y alegría de Rose, este procedimiento produjo autoanticuerpos tiroideos y destrucción inflamatoria crónica de la arquitectura de la glándula tiroides (fig. H19-1-1a y b).

Al observar la disminución de γ-globulina sérica posterior a la extirpación del bocio en la tiroiditis de Hashimoto, y la similitud histológica (fig. H19-1-1c) a la hallada en los conejos de Rose y Witebsky, Roitt, Doniach y Campbell analizaron la hipótesis de que las células plasmáticas de la glándula podrían elaborar un autoanticuerpo contra uno de los componentes tiroideos, que causaba daño tisular y generaba la respuesta inflamatoria crónica. Como confirmación, los sueros de los primeros pacientes analizados tenían anticuerpos precipitantes contra un autoantígeno en extractos tiroides normales que pronto se identificaron como tiroglobulina (fig. H19-1-2).



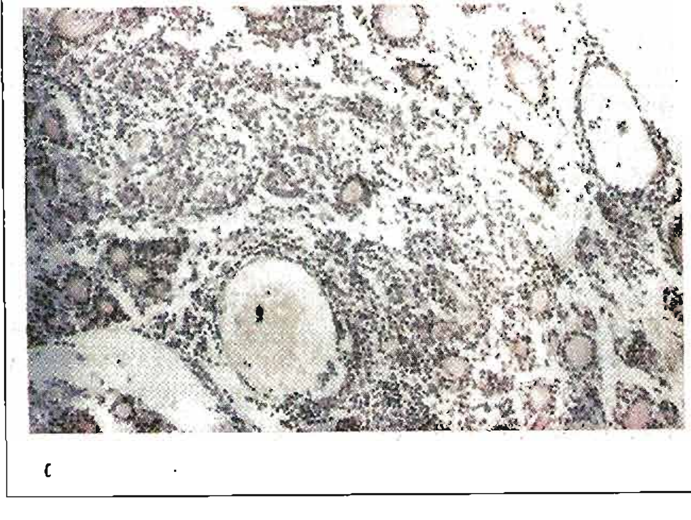


Fig. H19-1-1. Tiroiditis autoalérgica experimental. a) Arquitectura folicular de la glándula tiroides normal. **b)** Tiroiditis producida por inmunización con extracto tiroideo de rata en coadyuvante completo de Freund; las células inflamatorias crónicas invasoras destruyeron la estructura folicular. (Basado en los experimentos de Rose NR & Witebsky E [1956] Studies on organ specificity. V. Changes in the Thyroid gland of rabbits following active immunization with rabbit thyroid extracts. *Journal of Immunology* 76, 417.) **c)** Similitud de lesiones en la enfermedad autoinmune humana espontánea y las inducidas en el modelo experimental. En este modelo experimental no se observan otras características de la enfermedad de Hashimoto como la metaplasia eosinófila de las células acinosas (células de Askenazy) y los folículos linfáticos locales, si bien estos últimos se producen en la tiroiditis espontánea de pollos de la cepa obesa.

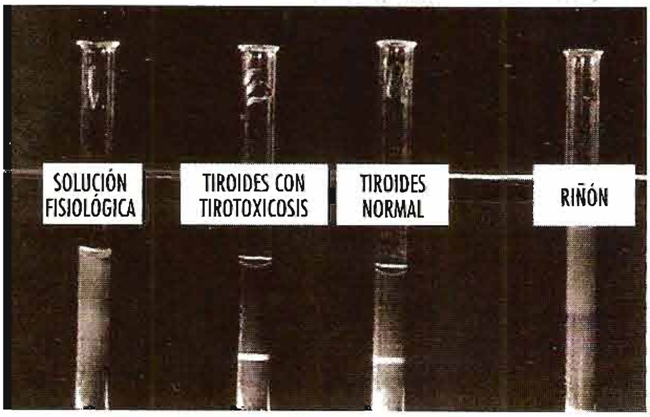


Fig. H19-1-2. Autoanticuerpos tiroideos en el suero de un paciente con enfermedad de Hashimoto, determinados por precipitación en agar. Se incorpora suero control en el fondo del tubo con agar; la capa intermedia sólo contiene agar, mientras que el autoantígeno se encuentra en la capa superior. A medida que el anticuerpo sérico y el autoantígeno tiroideo se difunden el uno hacia el otro forman una zona de precipitación opaca en la capa intermedia. Los controles con solución fisiológica y extracto de riñón son negativos. (Basado en Roitt IM, Doniach D., Campbell PN & Hudson RV [1956] Autoantibodies in Hashimoto's disease. *Lancet* ii, 820.)

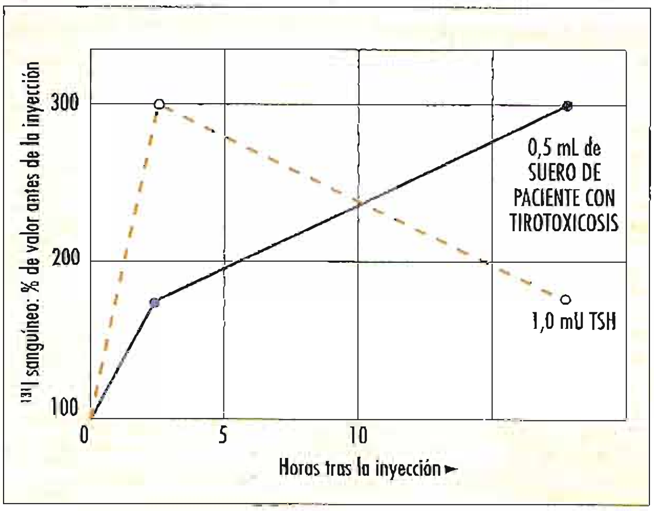


Fig. H19-1-3. El estimulador tiroideo de acción prolongada en la enfermedad de Graves. La inyección de TSH causa liberación rápida de ^{131}I de la glándula tiroides del animal ya marcado, en contraste con la liberación prolongada que sigue a la inyección de suero proveniente de un paciente con tirotoxicosis. (Basado en Adams DD & Purves HD [1956]Abnormal responses in the assay of thyrotrophin. *Proceedings of the University of Otago Medical School* **34**, 11.)

En la lejana Nueva Zelanda (según la ubicación geográfica de cada uno), mientras buscaban un factor circulante que pudiera ser responsable del hipertiroidismo de la toritoxicosis de Graves, Adams y Purves inyectaron suero de un paciente en cobayos cuyos tiroides habían sido marcados antes con ^{131}I y evaluaron la liberación del material con marca radiactiva desde la glándula con el transcurso del tiempo. Mientras que la hormona hipofisaria estimuladora del tiroides normal (TSH) producía un pico de radiactividad sérica unas 4 horas después de la inyección en el animal de experimentación, el suero de los pacientes con tirotoxicosis tenía un efecto estimulador prolongado (fig. H19-1-3). Por último se demostró que el denominado *estimulador tiroideo de acción prolongada* (LATS) era una IgG de acción similar a TSH sobre los receptores de esta hormona, pero con distinto curso de acción temporal, en gran parte debido a su vida media más prolongada en la circulación.

Hacia el centro del espectro se encuentran los trastornos en los cuales las lesiones tienden a estar ubicadas en un único órgano, pero los anticuerpos no son específicos del órgano. Un ejemplo típico sería la **cirrosis biliar primaria**, en la cual el pequeño conductillo biliar es el blanco principal de la infiltración de la célula inflamatoria, pero los anticuerpos presentes (sobre todo mitocondriales) no son específicos del hígado.

En el otro extremo del espectro se encuentran las "**enfermedades autoinmunes sistémicas o no específicas de órgano**", en general pertenecientes a la clase de trastornos reumáticos, por ejemplo **lupus eritematoso sistémico (LES)**, donde las lesiones y los autoanticuerpos no están confinados a un único órgano. Los cambios patológicos tienen amplia difusión y son, sobre todo, lesiones del tejido conectivo con necrosis fibrinoide. Se observan en la piel (es característica la erupción "lúpica" en mariposa en la cara), los glomérulos renales, las articulaciones, las membranas serosas y los vasos sanguíneos. Además, a menudo están afectados los elementos formes de la sangre. Se encuentra un heterogéneo conjunto de autoanticuerpos, algunos de los cuales reaccionan con el DNA y otros constituyentes nucleares de todas las células del organismo.

Cuadro 19-1. *Espectro de enfermedades autoinmunes*

ESPECÍFICAS DE ÓRGANO	
↓	Tiroiditis de Hashimoto Mixedema primario Enfermedad de Graves Anemia perniciosa Gastritis atrófica autoinmune Enfermedad de Addison Menopausia prematura (pocos casos) Infertilidad masculina (pocos casos) Miastenia grave Diabetes mellitus insulinodependiente Síndrome de Goodpasture Pénfigo vulgar Penfigoide Oftalmía simpática Uveítis facogénica Esclerosis múltiple Anemia hemolítica autoinmune Púrpura trombocitopénica idiopática. Leucopenia idiopática Cirrosis biliar primaria Hepatitis crónica activa negativa para HB Colitis ulcerosa Síndrome de Sjögren Artritis reumatoidea Esclerodermia Granulomatosis de Wegener Polimiositis/dermatomiositis Lupus eritematoso discoide Lupus eritematoso sistémico (LES)
NO ESPECÍFICAS DE ÓRGANO	

En el cuadro 19-1 se presenta un intento por englobar las principales patologías consideradas como asociadas con la autoinmunidad en este espectro.

Autoanticuerpos en las enfermedades humanas

En este estadio del análisis puede ser importante disponer de un recuento más exacto de los principales autoanticuerpos detectados en las distintas enfermedades, a fin de contar con un marco de referencia. El cuadro 19-2 presenta una lista de estos anticuerpos y de los métodos utilizados para su detección. Las notas que acompañan al cuadro amplifican ciertos puntos específicos, mientras que algunas de las pruebas se ilustran en las figuras 19-1, 6-9, 6-10 y 7-3. A medida que se caracterizan los antígenos y se obtienen en forma purificada, la técnica predominante es el correspondiente ELISA.

Superposición de trastornos autoinmunes

Hay una tendencia a que varios trastornos autoinmunes afecten al mismo paciente; cuando esto ocurre, a menudo la asociación se produce entre patologías dentro de la misma región del espectro autoinmune (véase cuadro 19-1). Así, los pacientes con tiroiditis autoinmune (enfermedad de Hashimoto o mixedema primario) tienen una incidencia de anemia perniciosa mucho mayor que la esperada en una población al azar, comparada respecto del sexo y la edad (10% contra 0,2%). En contraste, la tiroiditis y la enfermedad de Graves se diagnostican en pacientes con anemia perniciosa con una frecuencia mucho más elevada de la que cabría esperar. También se observan asociaciones entre la enfermedad de Addison y la enfermedad tiroidea autoinmune, y aparecen en casos poco frecuentes de jóvenes con anemia perniciosa y poliendocrinopatías, por ejemplo enfermedad de Addison, hipoparatiroidismo, diabetes y tiroiditis.

En los hallazgos serológicos hay una superposición aun mayor. El 30% de los pacientes con enfermedad tiroidea autoinmune presentan en forma simultánea anticuerpos séricos contra células parietales. Por otra parte, se demostró la presencia de anticuerpos tiroideos en hasta el 50% de los pacientes con anemia perniciosa. Cabe destacar que no son anticuerpos de reacción cruzada. Los anticuerpos específicos del tiroides no reaccionan con los gástricos, y viceversa. Cuando un suero reacciona con ambos órganos, esto implica que hay dos poblaciones de anticuerpos, uno con especificidad para el tiroides y otro para el estómago.

En el extremo del espectro no específico de órgano las enfermedades autoinmunes sistémicas, como el LES, se asocian clínicamente con artritis reumatoidea y diversos trastornos poco frecuentes: anemia hemolítica, leucopenia idiopática y púrpura trombocitopénica, dermatomiositis y síndrome de Sjögren. Son características generales la presencia de anticuerpos antinucleares y de factores antiglobulina (reumatoideos).

El síndrome de Sjögren ocupa una posición interesante (cuadro 19-3); además de las propiedades clínicas y serológicas asociadas con las enfermedades sistémicas, antes mencionadas, son evidentes las características de un trastorno específico de órgano. Se demuestra la presencia de anticuerpos que reaccionan con los conductos salivales y hay una incidencia anormalmente elevada de autoanticuerpos tiroideos; desde el punto de vista histológico las glándulas lagrimales y salivales afectadas muestran cambios de naturaleza similar a los observados en la enfermedad de Hashimoto, como el reemplazo de los elementos glandulares por parches de tejido granulomatoso linfocitario y de células plasmáticas. Se han informado asociaciones entre patologías de ambos extremos del espectro, pero, como se puede predecir a partir de los datos serológicos (cuadro 19-3), no son frecuentes.

Los pacientes con trastornos organoespecíficos muestran una ligera tendencia a desarrollar cáncer del órgano afectado, mientras que en las patologías no específicas de órgano se observa una mayor frecuencia de neoplasias linforreticulares generalizadas.

Modelos animales de enfermedad autoinmune

Los modelos animales espontáneos e inducidos han brindado notables detalles sobre la naturaleza de las enfermedades autoinmunes humanas; para contribuir al análisis, en el cuadro 19-4 se presenta una lista.

NATURALEZA Y NUTRICIÓN

Factores genéticos en la enfermedad autoinmune

Los fenómenos autoinmunes tienden a aparecer en familias determinadas. Por ejemplo, los parientes en primer grado (hermanos, progenitores e hijos) de pacientes con enfermedad de Hashimoto muestran una elevada incidencia de autoanticuerpos tiroideos (fig. 19-2) y de tiroiditis manifiesta o subclínica. Estudios paralelos han permitido descubrir relaciones similares en las familias de pacientes con anemia perniciosa, dado que hay prevalencia de anticuerpos contra las células parietales gástricas en los parientes propensos a desarrollar aclorhidria y gastritis atrófica. Respecto del LES se han informado alteraciones en la síntesis de inmunoglobulinas y una susceptibilidad a desarrollar "patologías del tejido conectivo", pero aún hay que aclarar algunos resultados contradictorios.

Estas relaciones familiares se podrían atribuir a factores ambientales, como microorganismos infecciosos, pero existen evidencias convincentes de que deben intervenir componentes genéticos importantes. Los datos provenientes de **gemelos** son inequívocos. Cuando en gemelos (idénticos) aparece tirotoxicosis o diabetes mellitus insulinodependiente (DMID), se observa un índice de concordancia muy superior (o sea, ambos gemelos afectados) al de mellizos (no idénticos). Además, ya se mencionó la posibilidad de criar líneas de animales que desarrollen en forma espontánea patologías autoinmunes (cuadro 19-4). En otras palabras, **la autoinmunidad está programada genéticamente**. Existe una línea obesa de pollos con tiroiditis autoinmune, un ratón diabético no obeso (DNO), que es modelo de la DMID humana, y la cepa murina New Zealand Black (NZB), que sucumbe por anemia hemolítica autoinmune. El producto híbrido de NZB con otra cepa, New Zealand White, (híbrido B × W) desarrolla anticuerpos antinucleares, por ejemplo anti-dsDNA, y una glomerulonefritis fatal inducida por complejo inmune, ambos son características claves del LES humano.

Estas patologías son **complejas desde el punto de vista genético**. Hasta el momento se identificaron 20 de estas regiones para DMID en ratones DNO y unas 25 para LES murino, mediante investigaciones genómicas tendientes a determinar los mapas de intervalos genéticos que contienen los genes de predisposición a la enfermedad, a través de uniones de los muchos miles de marcadores microsatelitales (CVRT, cantidades variables de repeticiones en tándem).

En general son factores contribuyentes importantes una predisposición genética a respuestas inflamatorias sostenidas y la pérdida de tolerancia a lo propio. Entre las asociaciones genéticas con patologías autoinmunes predominan la **unión con el complejo mayor de histocompatibilidad (CMH)**; de los muchos ejemplos existentes cabe nombrar el mayor riesgo de DMID en individuos DQ8, y la elevada incidencia de CD3 en la enfermedad de Addison y de CD4 en artritis reumatoidea (cuadro 17-1, pág. 419). La figura 19-3 muestra la genealogía de una familia múltiple con DMID, en la cual la patología presenta una relación estrecha con un haplotipo HLA en particular. Otro indicador del papel central de la estructura clase II en la determinación de la respuesta de células T a lo propio deriva de la incapacidad del ratón DNO para desarrollar inmunidad pancreática cuando se altera sólo un único residuo de aminoácido en la hélice alfa de la cadena H-2β, por la introducción de un transgén. La estrecha relación con CMH no es del todo inesperada, dado que, como se verá, las enfermedades autoinmunes dependen de las células T, y la mayoría de las respuestas de células T tienen restricción CMH.

Entre la plétora de loci no vinculados con CMH puede haber genes responsables del control editorial de los genes reordenados de la región variable de Ig que codifican el anti-DNA de avidez elevada. Otros pueden controlar el patrón de secreción de ci-

Cuadro 19-2. *Autoanticuerpos en la enfermedad humana*

ENFERMEDAD	ANTÍGENO	DETECCIÓN DE REACTIVIDAD INMUNITARIA
Tiroiditis de Hashimoto	Tiroglobulina	Precipitinas; hemaglutinación pasiva; ELISA
Mixedema primario	Peroxidasa tiroidea: citoplasmática	IFT en tiroides no fijado; hemaglutinación pasiva; ELISA
	de superficie celular	IFT en células tiroides viables; citotoxicidad mediada por C′
Enfermedad de Graves	Receptores para TSH de superficie celular	Bioensayo: estimulación de tiroides murino in vivo; bloqueo de la combinación de TSH con los receptores; estimulación de adenilciclasa
	Receptores de "crecimiento"	Inducción de la división celular en fragmentos tiroideos
Anemia perniciosa	Factor intrínseco	Neutralización; bloqueo de la combinación con vitamina B_{12}; fijación al factor intrínseco-B_{12} por coprecipitación
	ATPasa H^+-K^+ de célula parietal	IFT en mucosa gástrica no fijada
Enfermedad de Addison	Citoplasma de células suprarrenales ($17\alpha/21$-hidroxilasa)	IFT en corteza suprarrenal no fijada
Inicio prematuro de la menopausia[1]	Citoplasma de células productoras de esteroides	IFT en células suprarrenales e intersticiales de ovario y testículo
Infertilidad masculina (algunos casos)[2]	Espermatozoides	Aglutinación de espermatozoides en el eyaculado
Diabetes insulinodependiente[3]	Citoplasma de células de los islotes	IFT en páncreas humano no fijado
	Insulina, GAD e ICA512	ELISA
Resistencia insulínica tipo B con acantosis nigricans	Receptor para insulina	Bloqueo de la fijación de la hormona al receptor
Alergia atópica (algunos casos)	Receptor betaadrenérgico	Radioinmunoensayo de bloqueo con hidroxibencilpindolol
Miastenia gravis	Músculo esquelético y cardiaco	IFT en músculo esquelético
	Receptor para acetilcolina	Radioinmunoensayo de bloqueo o fijación con α-bungarotoxina
Síndrome de Lambert-Eaton	Canales de Ca^{2+} en terminaciones nerviosas	La IgG produce defectos neuromusculares en ratones
Esclerosis múltiple[4]	Encéfalo, incluso MBP	Células T MBP-reactivas
Síndrome de Goodpasture	Membranas basales glomerulares y pulmonares	Tinción lineal por IFT de biopsia renal con anti-IgG fluorescente
		Radioinmunoensayo con Ag purificado; ELISA
Pénfigo vulgar	Desmosomas entre las células espinosas de la epidermis (cadherina)	IFT en piel
Penfigoide	Membrana basal	IFT en piel
Uveítis facogénica	Cristalino	Hemaglutinación pasiva
Oftalmía simpática	Úvea	(Reacción cutánea retardada contra extractos de úvea)
Anemia hemolítica autoinmune[5]	Eritrocitos	Prueba antiglobulina de Coombs
Púrpura trombocitopénica idiopática	Plaquetas	Supervivencia abreviada de plaquetas in vivo
Cirrosis biliar primaria	Mitocondrias (piruvato deshidrogenasa)	IFT en células ricas en mitocondrias (p. ej., túbulos renales distales)
Hepatitis crónica activa (HBV & HCV negativas)	Músculo liso/láminas nucleares/núcleos	IFT (p. ej., en mucosa gástrica)
	Microsomas renales/hepáticos (cit P450)	IFT (riñón)
Colitis ulcerosa	"Lipopolisacárido" del colon	IFT; hemaglutinación pasiva (acción citotóxica de linfocitos sobre las células del colon)
	Proteína de superficie de célula epitelial del colon	CCAD en línea celular de cáncer de colon
		Los datos de Ac en esta enfermedad no son aceptados universalmente
Síndrome de Sjögren[6]	SS-A(Ro) SS-B(La)	IFT; precipitación en gel; ELISA
	Conductos/mitocondrias/núcleos/tiroides	IFT
	IgG	Pruebas de antiglobulina (factor rematoideo)
Artritis reumatoidea[7]	IgG	Prueba de antiglobulina; aglutinación de látex, prueba de aglutinación de eritrocitos de carnero (SCAT; producto comercial: prueba RAHA) y ELISA; agalacto-glucoforma
	Colágeno	Hemaglutinación pasiva
Lupus eritematoso discoide	Nuclear/IgG	IFT/prueba de antiglobulina
Esclerodermia[8]	Nuclear/IgG/centrómero	IFT
	Nuclear/IgG/Scl-70	IFT; electroforesis de contracorriente; ELISA
Dermatomiositis[9]	Nuclear/IgG/Jo-1	IFT; electroforesis de contracorriente; ELISA
Enfermedad mixta del tejido conectivo[10]	Nuclear extraíble	IFT; electroforesis de contracorriente; ELISA
Lupus eritematoso sistémico	DNA[11]	ELISA; IFT en Crithidia
	SnRNP (Sm y ribonucleoproteína)	IFT; técnicas de precipitación en gel; ELISA
	Nucleoproteína	IFT
	Conjunto de otros Ag, por ejemplo elementos formes de la sangre/IgG	
	Cardiolipina/β2-glucoproteína 1	Radioinmunoensayo
Granulomatosis de Wegener	Citoplasma de neutrófilos (ANCA; mieloperoxidasa/serina proteinasa)[12]	IFT en polimorfonucleares fijados con alcohol; ELISA

IFT, prueba de inmunofluorescencia (véase fig. 7-3); ELISA, ensayo de inmunoabsorción ligado a enzima (véase fig. 6-10).

Cuadro 19-3. *Interrelaciones serológicas específicas e inespecíficas de órgano en patologías humanas*

ENFERMEDAD	% DE REACCIONES POSITIVAS PARA ANTICUERPOS CONTRA			
	TIROIDES*	ESTÓMAGO*	NÚCLEOS*	IgG†
Tiroiditis de Hashimoto	99,9	32	8	2
Anemia perniciosa	55	89	11	
Síndrome de Sjögren	45	14	56	75
Artritis reumatoidea	11	16	50	75
LES	2	2	99	35
Controles‡	0-15	0-16	0-19	2-5

*Prueba de inmunofluorescencia.
†Pruebas clásicas para factor reumatoideo.
‡La incidencia aumenta con la edad, mujeres > varones.

tocinas que afecta el medio en el comienzo del LES y permiten la activación de las células B policlonales, o influyen sobre el equilibrio de subtipos Th1/Th2 capaces de incrementar la susceptibilidad a la DMID o inducir la resistencia en individuos que de otro modo estarían predispuestos. Los ratones carentes del gen *p21*, que es un regulador del ciclo celular en el sistema inmune, desarrollan anticuerpos contra dsDNA y otras características del LES. El gen se ubica en un locus de susceptibilidad del CMH de definición reciente, con importantes evidencias de vinculación con la enfermedad. Una mu-

---

1. En una minoría de los pacientes con enfermedad suprarrenal de Addison asociada se detectan anticuerpos contra la 17α/21-hidroxilasa, la enzima que escinde las cadenas laterales del colesterol y un antígeno gonadal de 51 kDa.
2. Sólo un pequeño porcentaje presenta aglutininas. Los espermatozoides se pueden aglutinar cabeza con cabeza, cola con cola o por la parte media. También se observan en un pequeño porcentaje de mujeres infértiles.
3. La mayoría de los diabéticos insulinodependientes, si no todos, presenta anticuerpos contra las células de los islotes en algún estadio, durante el primer año posterior al inicio, pero tienden a declinar en forma progresiva. En contraste, en los pacientes diabéticos con una poliendocrinopatía autoinmune asociada los anticuerpos contra las células de los islotes tienden a persistir durante muchos años. También se detectan Ac contra GAD (descarboxilasa del ácido glutámico) en el síndrome del hombre tieso. ECA512 es una proteintirosina cinasa.
4. MBP, proteína básica de mielina.
5. La prueba de Coombs incluye la demostración de anticuerpo fijado sobre los eritrocitos lavados, por aglutinación con una antiglobulina (véase fig. 16-16). La mayor parte de los autoanticuerpos eritrocitarios, que se fijan bien en el rango de temperaturas 0-37°C (Ac "caliente") , son IgG; alrededor del 60% de los casos son primarios, y el resto se asocian con otros trastornos autoinmunes, por ejemplo LES y colitis ulcerosa. Los Ac "fríos", que reaccionan mejor en el rango de 0-20°C, son en su mayor parte IgM; a menudo los eritrocitos recubiertos con este Ac se aglutinan con suero anticomplemento; cerca de la mitad son primarios y los demás se asocian con infección por *Mycoplasma pneumoniae* o enfermedad neoplásica generalizada de los tejidos linforreticulares.
6. Se demuestra la presencia de anticuerpos que reaccionan específicamente con el epitelio de los conductos excretores de las glándulas salivales en más de la mitad de los casos de Sjögren secundario, asociados con AR o LES. Los anticuerpos SS-A y SS-B confieren un patrón fluorescente nuclear moteado.
7. Los principales factores antiglobulina reaccionan con la porción Fc de IgG, que por lo general se adsorbe sobre partículas de látex (IgG humana) o se presenta en un complejo antígeno-anticuerpo (eritrocitos de carnero recubiertos por una dosis subaglutinante de anticuerpo de conejo). En la prueba de ELISA se fija IgG de conejo a un tubo de plástico, se agrega el suero del paciente y se determina la antiglobulina fijada a través de la posterior fijación de IgG o IgM antihumana marcada (véase fig. 6-10). Se pueden detectar los factores reumatoideos específicos para IgG humana mediante esta prueba, usando Fcγ para recubrir los tubos y Fdγ (la porción de la cadena pesada en el fragmento Fab) o IgM antihumanos marcados para la etapa final.
8. A menudo se encuentran anticuerpos antinucleolares en la esclerodermia (esclerosis sistémica progresiva). Scl-70 es topoisomerasa 1.
9. Jo-1 es histidina tRNA sintetasa.
10. Este síndrome combina características de esclerodermia, AR, LES y dermatomiositis. Se extraen los antígenos del núcleo y dan un patrón de fluorescencia moteado.
11. Los anticuerpos contra DNA monocatenario o bicatenario se estudian mediante una prueba con un tubo recubierto por DNA.
12. Un componente de los gránulos primarios, posiblemente la serina proteinasa III, permite la tinción del citoplasma. En la periarteritis nodosa, los anticuerpos contra la mieloperoxidasa permiten la tinción perinuclear de los neutrófilos polimorfonucleares (PMN) fijados con alcohol. Algunos sueros reaccionan con azurocidina, un poderoso antibiótico. El ANCA (anticuerpo citoplasmático antineutrófilo) dirigido contra las proteínas bactericidas/que incrementan la permeabilidad es un marcador de enfermedad inflamatoria intestinal y de colangitis esclerosante primaria.

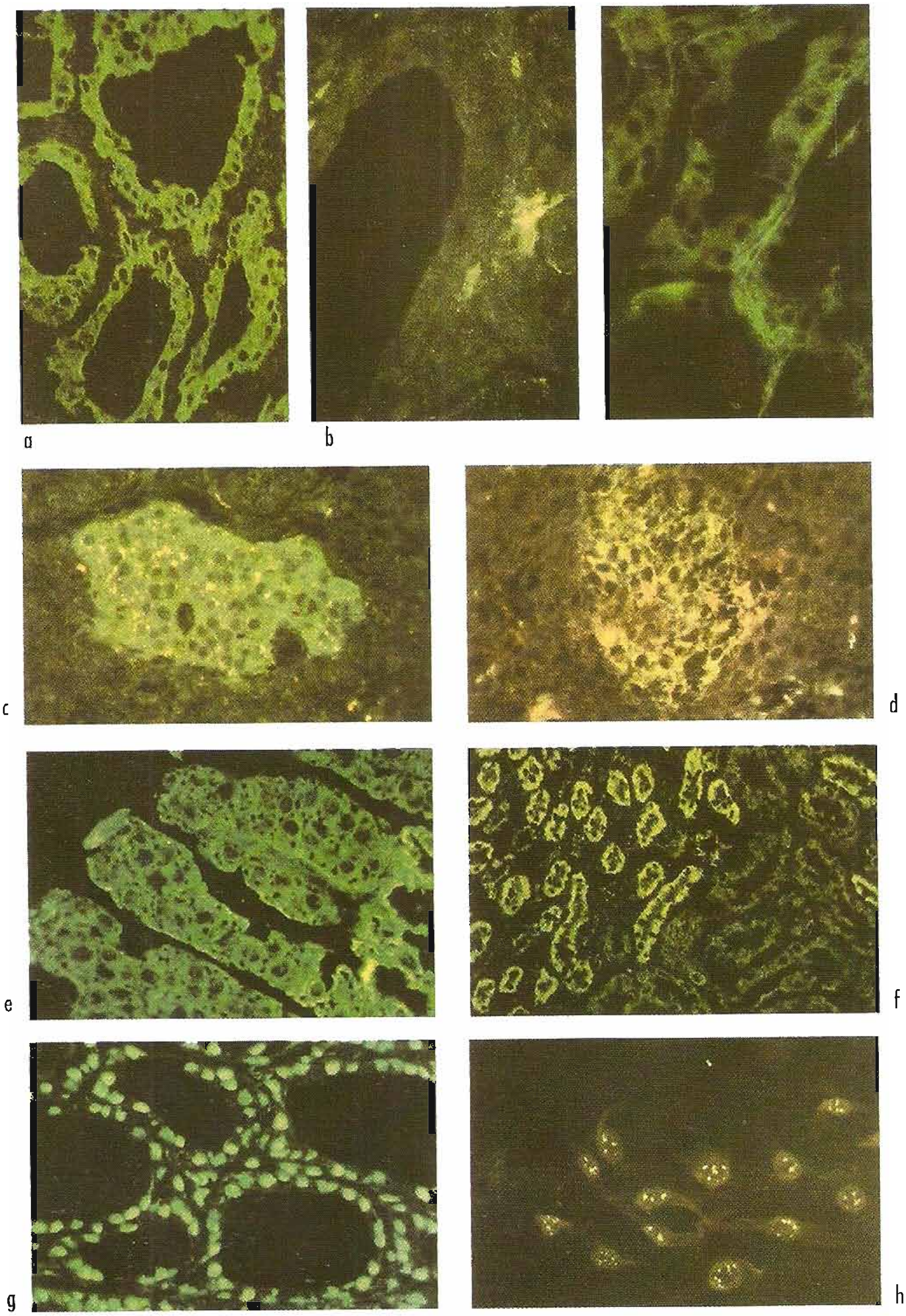


Fig. 19-1. Estudios de anticuerpos fluorescentes en enfermedades autoinmunes. **a)** Los anticuerpos antiperoxidasa tiroidea (microsómica tiroidea) tiñen el citoplasma de las células acinosas. **b)** Cortes de tiroides humano teñidos para CMH clase II: *izquierda:* tiroides normal con células foliculares no teñidas y una célula dendrítica aislada muy positiva para CMH clase II; *derecha:* tiroides de enfermedad de Graves (tirotóxica) con abundante CMH clase II citoplasmático, lo que indica síntesis activa. **c)** Fluorescencia de células en los islotes de Langerhans pancreáticos teñidos con suero de diabético insulinodependiente. **d)** Igual al anterior, muestra células teñidas en forma simultánea para somatostatina (las células amarillas están teñidas con antisomatostatina-rodamina e IgG antihumana-fluoresceína que localiza el autoanticuerpo fijado del paciente). **e)** Suero de paciente con enfermedad de Addison que tiñe el citoplasma de células de la granulosa suprarrenal de mono. **f)** Fluorescencia de células tubulares distales renales tras la reacción con autoanticuerpos mitocondriales. **g)** Tinción nuclear difusa de un corte tiroideo obtenido con anticuerpos de nucleoproteína provenientes de un paciente con LES. **h)** Suero de un paciente con esclerodermia que tiñe los nucléolos de queratinocitos humanos transformados SV40 (K14) en cultivo monocapa. [a), c), d) e) f) y g) cedidos gentilmente por el profesor F. Bottazzo, b) por el profesor R. Pujol-Borrell; y h) por la doctora F.T. Wojnarowska.]

Cuadro 19-4. *Modelos animales espontáneos e inducidos de enfermedad autoinmune*

		MODELO	ENFERMEDAD AUTOINMUNE
ESPECÍFICO DE ÓRGANO	ESPONTÁNEO	Ratón diabético no obeso (DNO); rata BB DNO.H2^{h4}	Diabetes insulinodependiente
		congénito	*Tiroiditis
		Cepa obesa (CO) de pollo; rata búfalo	Tiroiditis
	INDUCIDO	**Coadyuvante completo de Freund (CFA) que incorpora encéfalo	Encefalomielitis autoinmune
		CFA que incorpora tiroides, suprarrenales, espermatozoides, colágeno tipo II, ACh-R, proteína retiniana S1 o m.b.g.	Destrucción de células/tejidos portadores del antígeno relevante
		Ratones portadores del transgén promotor de IFNγ-insulina	Diabetes
		Reacción cruzada: heteróloga con eritrocitos autólogos	Anemia
		Coxsackie B con miosina	Miocarditis
		Timectomía en ratones de 2-4 días de vida	Organoespecífica generalizada
		Timectomía neonatal + irradiación X en ratas	Tiroiditis
		HgCl$_2$ en ratas	"de Goodpasture"
SISTÉMICO	ESPONTÁNEO	Cepa de ratones New Zealand Black (NZB)	Anemia hemolítica autoinmune
		NZB × W, BXSB	LES
		Ratón p21 por noqueo	LES
		MRL/*lpr*	LES, artritis
		Cepa de ratón apolillado	Enfermedad sistémica fatal generalizada
	INDUCIDO	Médula ósea de progenitor en ratones F1	I.v.h., seudo LES
		CFA con incorporación de idiotipo anti-DNA	LES
		CFA con incorporación de hsp de TB	Artritis por coadyuvante

*Alimentación rica en yodo.

**Antígeno emulsionado en mezcla de agua/aceite que contiene bacilos de tuberculosis muertos o sus derivados

Ach-R, receptor de acetilcolina, m.b.g., membrana basal glomerular.

tación en el gen *IL-2* que no afecte su capacidad funcional para producir la proliferación podría ser causante del *Idd-3*, que contribuye a la aparición de diabetes espontánea en ratones DNO, y del *Aod-2*, que controla la disgenesia ovárica autoinmune provocada por la timectomía neonatal. Es interesante observar el polimorfismo en un locus probable, identificado en más de una patología autoinmune; un buen ejemplo es *CTLA-4*, vinculado hace poco a DMID y enfermedad de Graves. CTLA-4 media la apoptosis específica de antígeno capaz de eliminar mediante clones las células T ya activadas; otros "genes apoptósicos" como *Fas*, *FasL* y *Bcl-2* están comprometidos en distintos trastornos autoinmunes. Debido a la cantidad de células que mueren en forma natural por apoptosis, es preferible que sean inertes desde el punto de vista inmunitario, un estado que se puede lograr mediante la activación de la transglutaminasa que induce la formación de enlaces cruzados entre proteínas y aumenta la eliminación por fagocitosis.

Experimentos de reproducción adecuados descubrieron que los genes que por una parte predisponen a la autoinmunidad agresiva, por la otra son diferentes de los que determinan los autoantígenos que intervienen. Los "**genes de autoinmunidad**" contribuyen con el elemento común subyacente que se superpone en los autoanticuerpos y las patologías antes mencionadas, si bien dentro de este grupo los genes que predisponen a la patología específica de órgano deben ser diferentes de los de trastornos no específicos de órgano (a juzgar por la superposición mínima entre ellos).

Las evidencias a favor de los genes de "**selección de autoantígeno y de tejido**" derivan no sólo de experimentos de reproducción con ratones NZB×W, que demuestran el control diferente de los anticuerpos antieritrocitos y antinucleares, sino también del análisis genético de pollos obesos que delinearon una influencia de CMH, anomalías en el control de células T reguladoras y un defecto de la glándula tiroides expresado como captación anormalmente elevada de ^{131}I (fig. 19-4). A diferencia de las células tiroideas normales, los tirocitos de Hashimoto cultivados presentan moléculas Fas en su superficie, y dado que FasL se expresa en forma constitutiva, se produce una muerte mutua homicida apoptósica. Sin embargo, puesto que la destrucción de la glándula durante el curso de la enfermedad es un proceso prolongado, parece posible que, in vivo, este escenario catastrófico pueda ser atemperado por factores antiapoptósicos como bcl-2. En los estudios familiares ya descritos (fig. 19-2) deben existir genes adicionales relacionados con el órgano, dado que los parientes de pacientes con anemia perniciosa están más propensos a autoinmunidad gástrica que

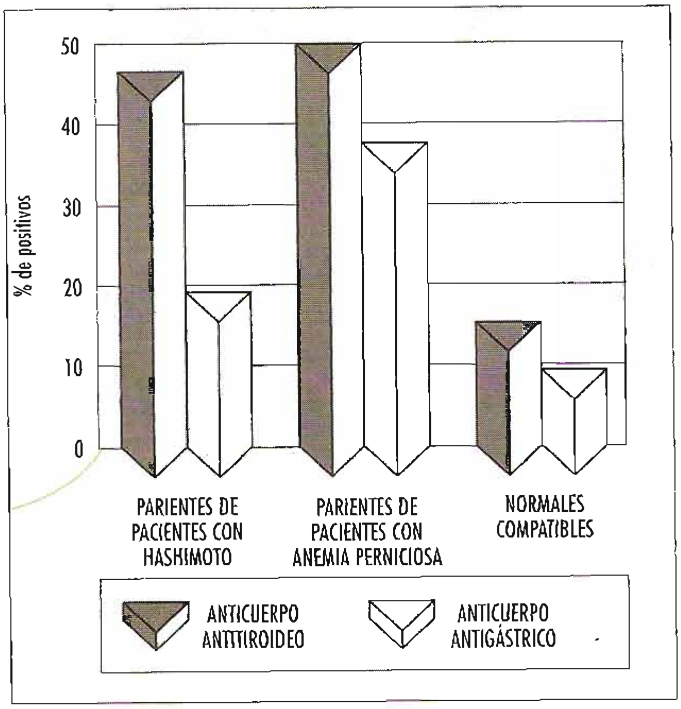


Fig. 19-2. Elevada incidencia de autoanticuerpos tiroideos y gástricos en parientes de primer grado de pacientes con enfermedad de Hashimoto o anemia perniciosa. Nótese la superposición de autoinmunidad gástrica y tiroidea, y la incidencia elevada de autoanticuerpos gástricos en los parientes de pacientes con anemia perniciosa. En general los títulos eran muy superiores en los pacientes, que en los controles. (Datos de Doniach D & Roitt IM (1964) *Seminars in Haematology* **1**, 313.)

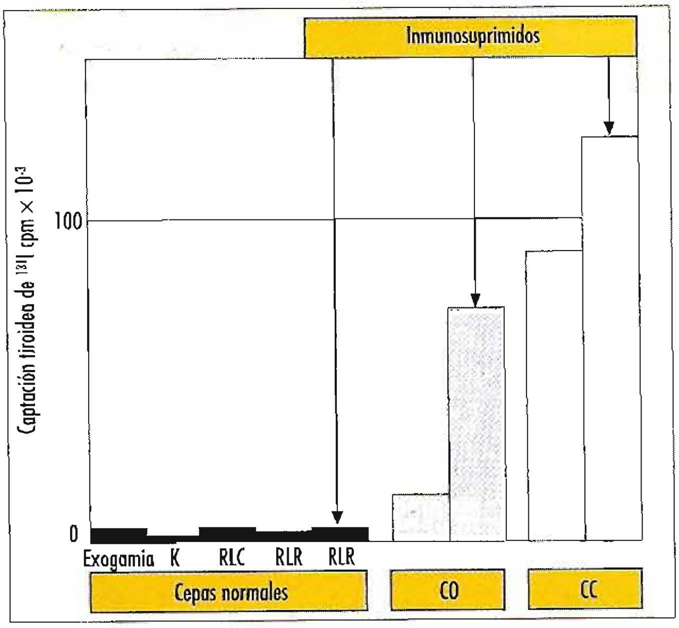


Fig. 19-4. Anomalías tiroideas en la cepa obesa (CO) de pollo. Captación de ^{131}I en pollos (CO) y en la cepa Cornell (CC) de la cual derivan, en comparación con cepas normales. Se suprimió la producción endógena de TSH mediante la administración de tiroxina, por lo que se midió la captación de ^{131}I independiente de TSH. La inmunosupresión demostró que la captación anormalmente elevada no se debía a estimulación inmunitaria. (Según Sundick RS, Bagchi N, Livezey MD, Brown TR & Mack RE. (1979) Abnormal thyroid regulation in chickens with autoimmune thyroiditis. *Endocrinology (Baltimore)* **105**, 493.)

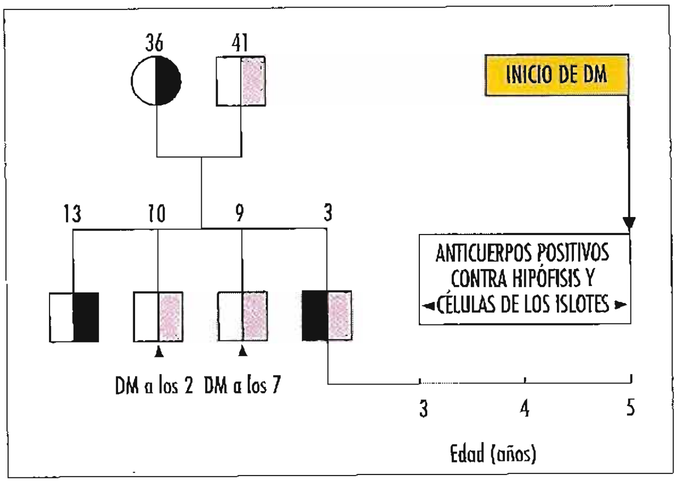

36
41
INICIO DE DM
13
10
9
3
ANTICUERPOS POSITIVOS CONTRA HIPÓFISIS Y CÉLULAS DE LOS ISLOTES
DM a los 2
DM a los 7
3
4
5
Edad (años)

Fig. 19-3. Vinculación de haplotipo HLA e inicio de diabetes insulinodependiente (DM). Haplotipos: □ A3, B14, DR6; ■ A3, B7, DR4; □ A28, B51, DR4; y □ A2, B62, C3, DR4. La patología está vinculada a la posesión del haplotipo A2, B62, C3, DR4. El hermano, de 3 años, tenía anticuerpos fijadores de complemento contra la superficie de las células de los islotes durante dos años, antes de desarrollar la diabetes franca que indica enfermedad precedente con largo proceso patológico. (Datos cedidos por el profesor G.F. Bottazzo.)

los miembros de familias con enfermedad de Hashimoto. Hasta el presente, el análisis de mapeo genético permitió ubicar el gen *DMID-2* de susceptibilidad a la diabetes en una VNTR localizada en posición 5′ respecto del gen de la insulina, lo que afecta la actividad de transcripción para la producción de la hormona e influye sobre el nivel de expresión tímica de insulina durante un período crítico en el desarrollo de autotolerancia. Las cepas susceptibles presentan niveles bajos de mRNA de insulina *tímica*, pero elevados de mRNA de insulina *pancreática*, en comparación con sus contrapartidas resistentes, capaces de favorecer la autorreactividad de la insulina que se suele observar en los estadios iniciales de la DMID. (Sí, inesperadamente parece posible detectar los mRNA de ciertos antígenos "organoespecíficos" en el timo fetal.)

El esclarecimiento de las complejas condiciones poligénicas es una tarea muy difícil. Si se estudia el LES murino como arquetipo, el análisis genético de la predisposición a la enfermedad es más compatible con un modelo de exposición umbral que requiere contribuciones agregadas o epistáticas de

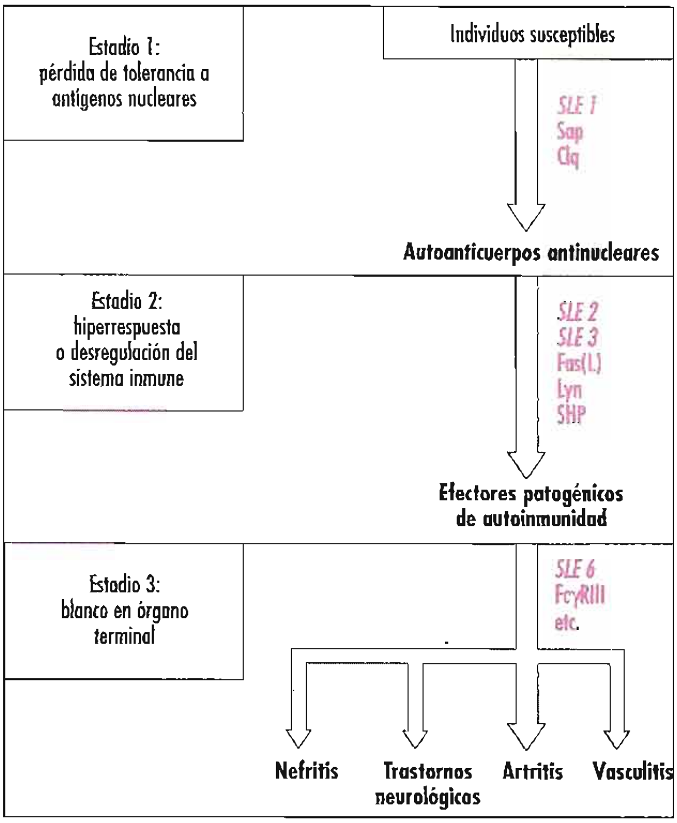

Estadio 1:
pérdida de tolerancia a antígenos nucleares
Individuos susceptibles
SLE 1
Sap
Clq
Autoanticuerpos antinucleares
Estadio 2:
hiperrespuesta o desregulación del sistema inmune
SLE 2
SLE 3
Fas(L)
Lyn
SHP
Efectores patogénicos de autoinmunidad
Estadio 3:
blanco en órgano terminal
SLE 6
FcγRIII
etc.
Nefritis
Trastornos neurológicos
Artritis
Vasculitis

Fig. 19-5. Estadios posibles del desarrollo de LES en individuos susceptibles. Los genes o productos génicos aparecen en color rojo. En la determinación del blanco en el órgano terminal intervienen diversos genes. Las interacciones epistáticas entre *LES 1* y *3* derivados de la cepa NZW producen lupus severo cuando se introducen juntos en una cepa B6 resistente en otros aspectos como doble congénito, aunque ninguno de ellos aislado causa enfermedad severa. La cepa NZW, que contiene ambos genes, es resistente a la enfermedad porque posee una región supresora genética, de la que se han identificado cuatro en diversas cepas de lupus murino.

múltiples genes de susceptibilidad, probablemente vinculadas con distintos estadios de la patogenia de la enfermedad (fig. 19-5).

Influencias hormonales en la autoinmunidad

Hay una tendencia general a que las enfermedades autoinmunes sean más frecuentes en mujeres que en hombres (fig. 19-6), quizá debido en esencia a diferencias de patrones hormonales. Se ha sugerido que los pacientes tienen niveles más elevados de estrógenos y que la administración de hormonas masculinas a ratones con LES disminuye la severidad de la enfermedad. A menudo el embarazo se asocia con un alivio de la severidad de la enfermedad, en particular en la artritis reumatoidea (AR), y en ocasiones hay una notable recaída tras el parto, en un momento en que se producen cambios drásticos en hormonas como la prolactina, además de la pérdida de la placenta. Cabe destacar, además, el desarrollo frecuente de hipotiroidismo posparto en mujeres con autoinmunidad tiroidea preexistente.

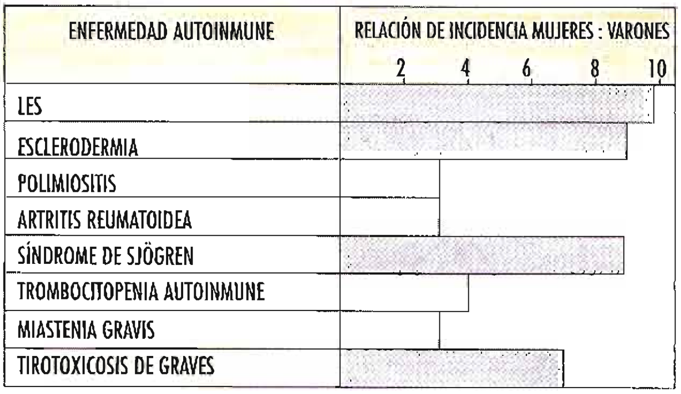


Fig. 19-6. Incidencia aumentada de enfermedad autoinmune en mujeres.

En el capítulo 11 se analizó la importancia de la retroalimentación inmune neuroendocrina que afecta el circuito de control citocina-hipotálamo-hipófisis-suprarrenales. Hoy se han descubierto anomalías de este circuito de retroalimentación en varios trastornos autoinmunes. Los pacientes con AR leve tienen niveles de costicosteroides menores que los normales o que los de pacientes con osteoartritis u osteomielitis, a pesar de la presencia de inflamación. Además, los pacientes con AR sometidos a cirugía manifiestan una secreción de cortisol muy inadecuada en presencia de niveles elevados de IL-1 e IL-6 plasmáticos (fig. 19-7), fenómeno que en la actualidad se atribuye a un control hipotalámico defectuoso. Los pollos de la cepa obesa (CO), varias cepas de ratones lúpicos y la rata de Lewis, que posee una susceptibilidad anormal a la inducción de autoinmunidad, presentan respuestas mitigadas de costicosteroides inducidas por IL-1. Las células T y B de ratones DNO sobreviven en cultivo durante períodos anormalmente prolongados y sus timocitos presentan resistencia relativa a la apoptosis inducida por corticosteroides, lo que implicaría que el ciclo de retroalimentación no opera en el nivel de los linfocitos y podría generar una función inmunitaria mal regulada; la capacidad de retrasar el comienzo de la diabetes mediante inyecciones de IL-1 parece concordar con este punto de vista.

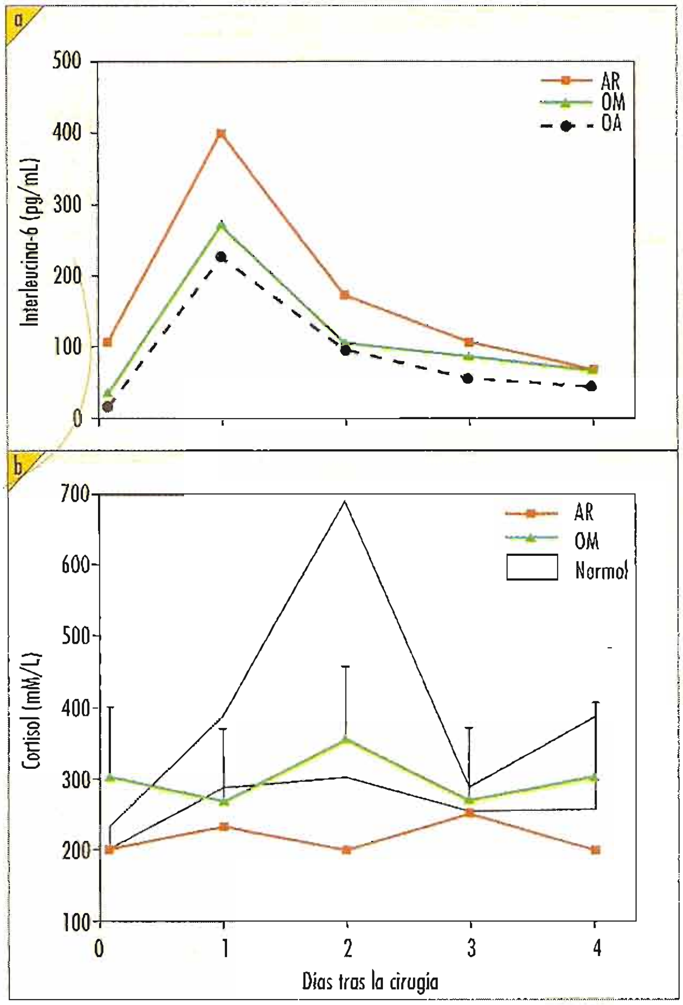


Fig. 19-7. Falla en el control por retroalimentación de la producción de cortisol en artritis reumatoidea (AR). Tras la cirugía **a)** los pacientes con AR presentan niveles aún mayores de IL-6 plasmática que los controles con osteoartritis (OA) u osteomielitis (OM). Sin embargo, **b)** presentan una deficiencia profunda en la producción de cortisol, lo que evidencia una falla en el control por retroalimentación. (Datos cedidos gentilmente por el Profesor G. Panayi, de Chikanza IC, et al (1992). Defective hypothalamic response to immune and inflammatory stimuli in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis and Rheumatism* 35, 1281, con autorización de los editores.)

¿El medio contribuye?

Estudios con gemelos

Aunque en gemelos idénticos el índice de concordancia del 50% para el desarrollo de la enfermedad autoinmune diabetes mellitus insulinodependiente (DMID) es considerablemente mayor que el de mellizos dicigóticos, lo que sugiere un fuerte elemento genético, aún resta por asignar un 50%. No todos se deben necesariamente al medio, dado que si bien los gemelos monocigóticos poseen idénticos genes de inmunoglobulina de línea germinativa y de receptor de células T (TCR), los procesos de diversificación de los receptores y de las interacciones antiidiotipo internas son tan complejos, que los repertorios de receptor obtenidos serán en extremo variables y es muy poco probable que sean idénticos. No obstante, un estudio posterior sobre índices de concordancia para DMID en gemelos monocigóticos dio la cifra más elevada del 70% si eran heterocigotos DR3/DR4, pero sólo del 40% si no lo eran. En consecuencia, para la misma enfermedad el elemento genético puede ser casi por completo dominante o ser un factor menor, aunque significativo, para determinar el resultado. Si se consideran las enfermedades no específicas de órgano, por ejemplo el LES, se encuentra una contribución genética aun menor, con un índice de concordancia de sólo el 23% en gemelos monocigóticos del mismo sexo, contra el 9% en mellizos dicigóticos del mismo sexo. También existen muchos otros ejemplos en los cuales parientes sin afección clínica de pacientes con LES tienen mayor incidencia de autoanticuerpos si conviven con el enfermo que si no viven con él. Sin embargo, dentro de determinado hogar el cónyuge tiene menor propensión a desarrollar autoanticuerpos que los parientes consanguíneos. En suma, en algunos trastornos los principales factores son genéticos, mientras que en otros parecen dominar las influencias ambientales.

Factores no microbianos

Cabe preguntarse qué agentes ambientales se pueden identificar. Uno podría ser la dieta; se entiende que los aceites de pescado que contienen ácidos grados ω-3 muy poliinsaturados de cadena larga son beneficiosos para los pacientes con AR (habría que ver si los reumatólogos de Groenlandia tienen poco trabajo). Los rayos solares son desencadenantes indiscutidos de las lesiones cutáneas en el LES. La exposición a solventes orgánicos puede iniciar la autoinmunidad de membrana basal que causa el síndrome de Goodpasture (nótese la incidencia elevada de esta patología en personas HLA-DR2 que trabajan en tintorerías o aspiran por sifón combustible del tanque de los automóviles de otras personas). Una situación más ingeniosa, pero efectiva, es la producción de una enfermedad similar en ratas Brown Norway por inyección de cloruro de mercurio, y existen varias patologías inducidas por fármacos, por ejemplo LES, miastenia grave y anemia hemolítica autoinmune.

Microbios

Es obvio que el agente ambiental de elección debe ser un microorganismo infeccioso; hay algunos ejemplos definidos de enfermedad autoinmune tras la infección, por lo general en individuos con predisposición genética: en el 2-3% de los pacientes con susceptibilidad, tras una faringitis estreptocócica aparece fiebre reumática aguda; el virus Coxsackie B3 produce miositis autoinmune en determinadas cepas murinas.

En la mayoría de los casos de enfermedad autoinmune crónica humana el problema es el largo período de latencia que torna difícil el rastreo del proceso inicial (véase fig. 19-3) y, en segundo lugar, por lo general no se pueden aislar microorganismos viables de los tejidos afectados.

Algunos grupos de investigadores centraron su atención en **formas de micobacterias de crecimiento muy lento**, de cultivo en extremo difícil, las cuales parecen estar asociadas con diversos estados de hipersensibilidad. *M. paratuberculosis* se vincula con la enfermedad de Jöhne, una infección intestinal granulomatosa crónica del ganado vacuno similar a la enfermedad de Crohn. Mediante sondas genéticas se han identificado secuencias micobacterianas en sarcoidosis. A menudo se observa que la artritis granulomatosa de Takayasu se acompaña con respuestas muy intensas a TB. La enfermedad de Whipple, asociada con artralgias y cambios cutáneos, tiene una evolución tan lenta que a menudo se tardan 10 años en diagnosticarlo; si bien mediante microscopia electrónica se pueden identificar microorganismos en los macrófagos, hasta el presente no se han podido cultivar. Se ha logrado un notable descubrimiento en la **artritis reactiva** relacionada con HLA-B27 provocada por la infección por *Chlamydia*, *Yersinia* o *Salmonella*, dado que ahora se pueden demostrar las respuestas de células T contra fragmentos bacterianos o quizá contra los epítopos propios de reacción cruzada, que se encuentran en las articulaciones afectadas años después de la infección primaria. Estos estudios y la capacidad de hibridación de las sondas de virus EB y de DNA de *Chlamydia* con una proporción bastante significativa de tejidos sinoviales de pacientes con artritis reumatoidea plantean importantes interrogantes respecto de la localización celular y el estado molecular del ácido nucleico "microbiano" en estas células.

Dada la posibilidad de que finalmente en algunos trastornos se puedan identificar microorganismos persistentes, es necesario reexaminar la cuestión de si las lesiones de hipersensibilidad son inducidas por los microorganismos o por el antígeno propio, o sea si se trata de una enfermedad autoinmune desencadenada por un microorganismo o un fenómeno autoinmune superpuesto después sobre una hipersensibilidad microbiana subyacente. Quizá tengan lugar ambas circunstancias. Se sabe con certeza que las reacciones cruzadas con componentes microbianos pueden iniciar la autoinmunidad (véase pág. 471), o en época reciente se demostró que la infestación por el helminto *Nippostrongylus brasiliensis* puede anular la tolerancia contra un superantígeno estafilocócico no relacionado; quizá las infestaciones de esta naturaleza puedan estimular tal cantidad de citocinas que confundan o incluso activen las células T anérgicas con potencial autorreactivo. También pueden actuar como superantígenos e inducir la estimulación policlonal de determinadas familias de TCR Vβ. El tema se complica aun más debido al conocimiento de que los microorganismos ambientales en ocasiones **protegen** contra las enfermedades autoinmunes espontáneas; la incidencia de diabetes aumenta mucho si se mantienen los ratones DNO en condiciones específicas libres de patógenos, mientras que el virus Sendai inhibe el desarrollo de artritis en la cepa MRL/*lpr*. La extraordinaria variación en la incidencia de diabetes en colonias DNO criadas en una amplia diversidad de distintos bioterios (fig. 19-8) es un testimonio a favor de la influencia notable de la flora ambiental sobre la expresión de la enfermedad autoinmune.

LA AUTORREACTIVIDAD ES NATURAL

Los mecanismos de tolerancia no destruyen todos los linfocitos autorreactivos. El procesamiento de un autoantígeno permite expresar en forma preferencial ciertos péptidos (dominantes) sobre células presentadoras de antígeno (CPA), mientras que otros (crípticos) sólo aparecen en la hendidura del CMH en concentraciones muy bajas que si bien son capaces de expandir las células T afines en el contexto de la selección tímica positiva (véase pág. 257); sin embargo, son incapaces de proporcionar una señal lo suficientemente intensa para permitir la selección negativa de estas células. En consecuencia, las células T autorreactivas específicas para los **epítopos crípticos** sobrevivirán en el repertorio, que así mostrará cierta tendencia hacia una autorreactividad débil.

Dado que las células B-2 convencionales son menos susceptibles que las células T a la inducción de tolerancia por concentraciones bajas de autoantígenos circulantes, como tiroglobulina (fig. 12-16), las

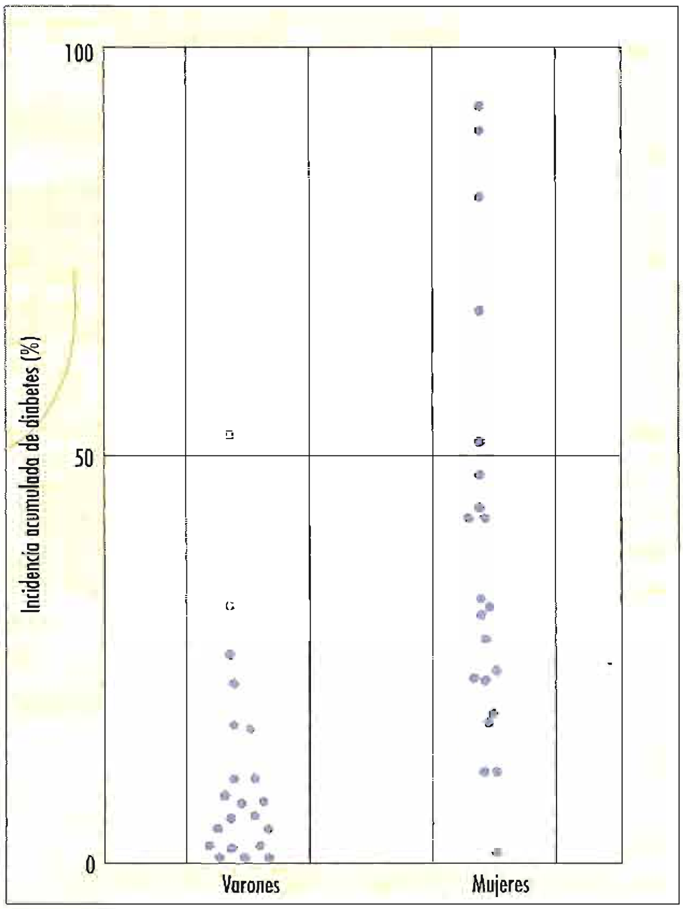


Fig. 19-8. Incidencia de diabetes espontánea en colonias de ratones DNO dispersas en geografía, a las 20 semanas de edad. Cada punto representa una colonia aislada. La dispersión extrema de valores no es atribuible a la variación genética en grado significativo. Es muy evidente la menor incidencia en varones. (Datos adaptados de Pozzilli P, Signore A, Williams AJK & Beales PE. (1993) DNO mouse colonies around the world. Immunology Today **14**, 193.)

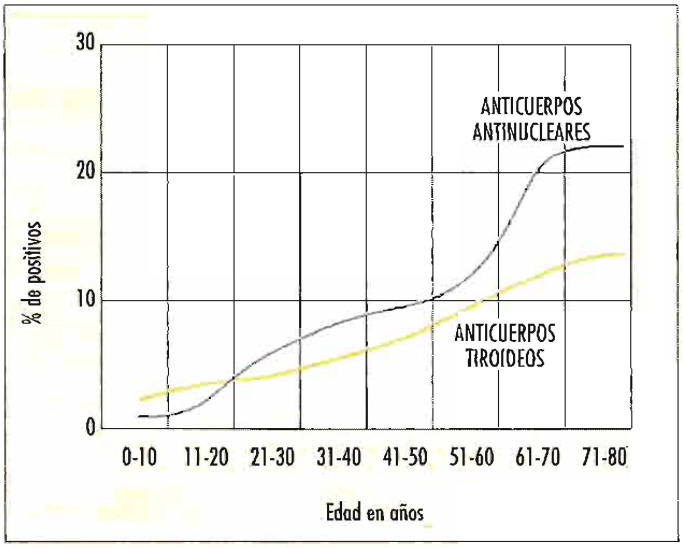


Fig. 19-9. Incidencia de anticuerpos en la población general. Un suero se considera positivo para los anticuerpos tiroideos si reacciona con una dilución 1:10 en la prueba de eritrocitos con ácido tánico o en la prueba de inmunofluorescencia, y positivo para los anticuerpos antinucleares si reacciona con una dilución de 1:4 por inmunofluorescencia. En estos estudios no se determina la clase de anticuerpo.

células B autorreactivas específicas para estos antígenos circularán, pero no acompañadas por las células T helper afines (fig. 12-17). El lector también recordará la población de células B1, que en las primeras etapas de la vida comienza a formar una red conectada a través de idiotipos de línea germinal. Se cree que las células son estimuladas por interacciones idiotípicas tipo 2 independientes de células T para producir los denominados "**anticuerpos naturales**", término aplicado a los anticuerpos séricos que, según se cree, aparecen antes del desafío antigénico externo, por lo que se originan con independencia de la estimulación antigénica convencional. Son anticuerpos de línea germinativa, en su mayor parte IgM, si bien una proporción importante pertenece a las clases IgG e IgA. Comprenden un conjunto básico de autoanticuerpos con reactividad de baja afinidad por las especificidades múltiples y reactividad cruzada con antígenos bacterianos comunes, que suelen tener naturaleza de hidratos de carbono. Todo esto se puede considerar una estrategia para asegurar que la excitación preliminar de las células por estas interacciones reticulares internas confiere protección bacteriana, en especial dado que la naturaleza polimérica de los antígenos de hidratos de carbono asegura que los anticuerpos IgM, aunque sean de baja afinidad, se pueden fijar con gran avidez a los microbios.

Se han propuesto otras funciones para estos anticuerpos naturales, las cuales no son mutuamente excluyentes: Grabar los consideró agentes transportadores responsables de la eliminación de los componentes de desgaste del organismo. Otros autores les confieren un papel en la homeostasis, por el cual impiden la estimulación de células autorreactivas de la población convencional de células B-2, ya sea a través del enmascaramiento de epítopos autoantigénicos o de la regulación general de los idiotipos. Este último punto de vista es avalado por un informe que asegura que la fracción IgM de suero normal puede bloquear la fijación de fragmentos IgG F(ab')$_2$ autólogos a diversos autoantígenos. Se piensa que estos autoanticuerpos naturales contribuyen a la fijación denominada "inespecífica" de Ig del suero normal, en otros aspectos, para analizar autoantígenos, pero se observan reacciones algo más intensas en una pequeña proporción de personas más jóvenes y la incidencia aumenta con la edad (fig. 19-9). Si bien no se asocia con daño tisular aparente en la clínica, cabe destacar que al menos en el caso del tiroides y el estómago las biopsias han vinculado la presencia de títulos elevados de anticuerpo, en especial de la clase IgG, con lesiones menores de tiroiditis o gastritis (según el caso), y el análisis post mortem detectó un 10% de mujeres clínicamente normales de mediana edad con grados significativos, pero limitados, de cambios linfadenoides en el tiroides, en esencia similares a la característica de la enfermedad de Hashimoto.

Como ya habrán supuesto los entusiastas de la simetría y el orden, parece haber una población análoga de células T con fenotipo $CD3^+ CD4^-8^-$, portadoras del marcador de células B B220, que contienen grandes células de activación interna que reaccionan con gran intensidad con las células T propias y se expanden a edad temprana. Es posible que se conecten con la red de células B $CD5^+$ a través de interacciones de idiotipo con las células de este linaje presentes en el timo. El lector se sorprenderá al saber que en la generación de las líneas de células T no es raro aislar células que proliferan y liberan IL-2 en respuesta a células cebadoras autólogas positivas para clase II; incluso si se considera que la presencia de estas cebadoras en los cultivos tiende a seleccionar estas células autorreactivas, no cabría pensar que las células con estas especificidades pudieran desplazarse con libertad en el organismo sin restricciones. Esto retrotrae a los conceptos de "homúnculo inmunológico", en el cual los autoantígenos dominantes del organismo quedan grabados en el sistema inmune y las células T que los reconocen están muy controladas por las células T reguladoras (véase pág. 232).

Si bien las células efectoras de la enfermedad autoimune se encuentran en los individuos normales, se requieren condiciones anormales para la estimulación. En modelos de experimentación de enfermedades específicas de órganos, como la inducida en el tiroides por la inyección de tiroglobulina en coadyuvante completo de Freund, las células T efectoras y las células plasmáticas que elaboran autoanticuerpos IgG con afinidad elevada son generadas en animales normales. El coadyuvante completo de Freund no produce anticuerpos contra DNA bicatenario, Sm u otros autoantígenos típicos de los trastornos no específicos de órgano, lo que sugiere que las células T helper específicas de antígeno relevantes no se encuentran disponibles en el repertorio normal. Sin embargo, si las células T se estimulan mediante enfoques radicalmente diferentes es posible forzar la formación de anticuerpos no específicos de órgano en animales normales; en un sistema se estimulan las células T alogénicas que elaboran una reacción injerto versus huésped (i.v.h) y, por lo tanto, se induce la activación policlonal, a través de células B portadoras de clase II, mientras que en otro sistema se induce la inmunización con un idiotipo anti-DNA público (16/6) en coadyuvante completo de Freund.

LA AUTOINMUNIDAD ¿ES INDUCIDA POR EL ANTÍGENO?

No es una pregunta sin sentido, como se podría pensar, dado que los linfocitos pueden ser estimulados por los antígenos, pero también por antiidiotipos y por superantígenos, además de otros activadores policlonales. Si la respuesta es afirmativa, cabe preguntarse si la molécula propia es un autoinmunógeno o sólo un autoantígeno, o sea si induce la respuesta autoinmune o si sólo es reconocida por el producto.

Enfermedad específica de órgano

Primero se analizarán las evidencias directas. Los pollos CO desarrollan en forma espontánea autoanticuerpos IgG precipitantes contra tiroglobulina y una respuesta antitiroidea inflamatoria crónica, que destruye la glándula y produce hipotiroidismo. Si se elimina la causa del antígeno mediante tiroidectomía neonatal, no se forman autoanticuerpos. La inyección de tiroglobulina normal a estos animales induce la generación de anticuerpos. Tras la tiroidectomía de los pollos con tiroiditis establecida se observa un descenso notable del título de anticuerpos. En conclusión, la inmunidad antitiroglobulina espontánea es iniciada y mantenida por los autoantígenos de la glándula tiroides. Además, dado que la respuesta depende por completo de las células T, se infiere que éstas y las B son inducidas por la tiroglobulina en este modelo. Un estudio paralelo en ratones DNO demostró que la destrucción con aloxano de las células B en el páncreas inhibía el estímulo de la producción de autoanticuerpos.

Como siempre la enfermedad humana es un hueso más duro de roer y es necesario sustentarse en evidencias más indirectas. Se identificaron las líneas de células T de las glándulas tirotóxicas y fue posible demostrar la estimulación directa mediante células tiroideas. La producción de autoanticuerpos IgG de gran afinidad, acompañada por la mutación somática, se consideran una evidencia poderosa a favor de la selección de las células B por el antígeno en una respuesta dependiente de T. Esto se debe sencillamente a que los anticuerpos IgG de gran afinidad sólo se originan a través de mutación y selección por los antígenos dentro de los centros germinativos (véase pág. 213). Baste señalar que se han informado amplias evidencias de mutación somática y de anticuerpos de gran afinidad. Más indirecto es el argumento de que cuando los anticuerpos se forman regularmente contra un cúmulo de epítopos en una molécula única (p. ej., tiroglobulina) o de antígenos dentro de un solo órgano (p. ej., tiroglobulina más peroxidasa tiroidea) es difícil proponer una hipótesis que en última instancia no dependa de la estimulación por un antígeno.

Autoinmunidad sistémica

En este caso el interrogante es aún más difícil de responder, en particular debido a la imposibilidad de eliminar el antígeno. Respecto de las células B prevalecen los mismos argumentos esgrimidos para las enfermedades específicas de órgano, o sea autoanticuerpos IgG mutantes de gran afinidad, a menudo dirigidos contra cúmulos de antígenos como los constituyentes del nucleosoma. (Los lectores aficionados a los mecanismos deberían consultar la figura 19-12b-5 y luego la figura 19-13c, para seguir la vía por la cual una célula B activada, específica para un componente de un complejo, puede presentar epítopos para una T helper activada en un segundo constituyente del mismo complejo.)

Las células T son esenciales para estas respuestas; de hecho, la eliminación de células T CD4 en ratones NZB o NZB×W anula la producción de autoanticuerpos. Hasta aquí se comprende; pero a partir de este momento se ingresa en un territorio desconocido, dado que se ignora la especificidad antigénica de las células T. Incluso se proponen hipótesis más radicales. Una de ellas sugiere que en realidad se trata de respuestas de hipersensibilidad contra microorganismos difíciles de identificar (véase más arriba), si bien aún resta establecer la causa de los autoanticuerpos producidos y su papel patogénico conocido en ciertas enfermedades (p. ej., complejos en LES). Otra posición muy debatida afirma que las células T no entran en contacto con los antígenos convencionales, lo que claramente es el caso de las respuestas contra el DNA, y en cambio se dedican al reconocimiento de idiotipos; por ejemplo el LES sería una "**enfermedad por idiotipo**" producida por degradación de la red. Es de suponer que la red se puede degradar en forma espontánea o ser afectada por microorganismos (véase fig. 19-14). Nótese que la inmunización de ratones mediante autoanticuerpos monoclonales contra DNA, ribonucleoproteína (RNP) y Sm estimula la producción de los anticuerpos portadores del idiotipo original; esto debe afectar una red interna.

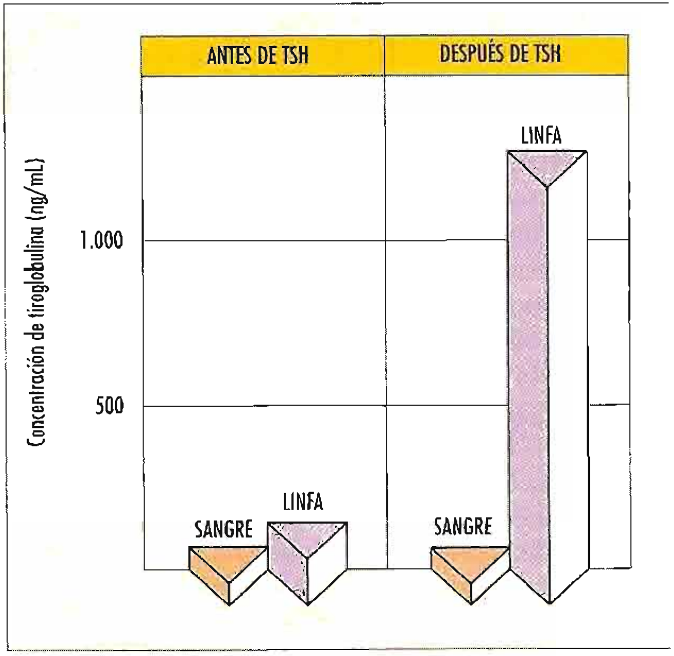


Fig. 19-10. La tiroglobulina en el drenaje linfático cervical del tiroides de rata. La concentración de tiroglobulina aumenta tras la inyección de hormona estimulante del tiroides hipofisaria (TSH), lo que demuestra que la liberación por los folículos tiroideos se vincula con la actividad fisiológica de las células acinosas. El coloide es incorporado en el margen apical y la tiroglobulina es escindida proteolíticamente de las hormonas tiroideas, y liberada junto con las proteínas no degradadas desde la base de la célula. (De Daniel PN, Pratt DE, Roitt IM & Torrigiani G. (1967) *Quarterly Journal of Experimental Physiology* 52, 184.)

El autoantígeno ¿está disponible para los linfocitos?

La opinión inicial, al menos respecto de los anticuerpos específicos de órgano, era que los antígenos eran secuestrados dentro del órgano y debido a la falta de contacto con el sistema linforreticular no podían establecer tolerancia inmunitaria. Cualquier percance que cause una liberación del antígeno permitirá la formación de autoanticuerpos. Esto ocurre con algunos constituyentes corporales; en los casos de los espermatozoides, el cristalino y el corazón, por ejemplo, la liberación de determinados componentes directamente a la circulación puede provocar autoanticuerpos. Pero en general se observó que la inyección de extractos *no modificados* de los tejidos que intervienen en los trastornos autoinmunes específicos de órganos no induce de inmediato la

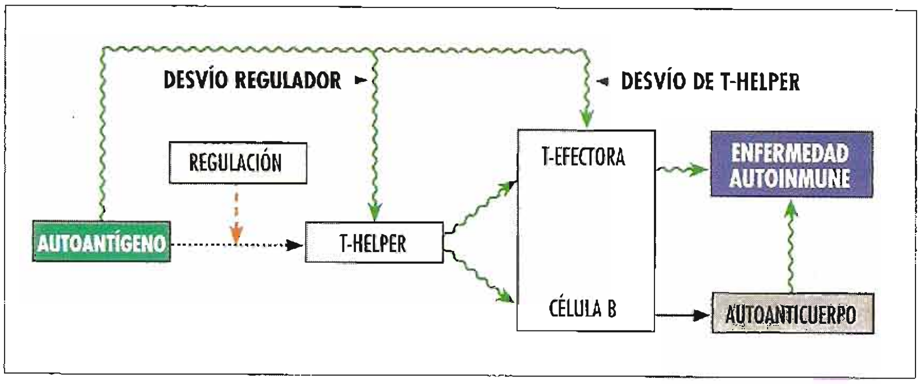


Fig. 19-11. La autoinmunidad se origina sorteando el control de autorreactividad. Las restricciones sobre la estimulación de las células T helper autorreactivas por los autoantígenos se pueden evitar a través de desvíos alrededor de la célula helper o por alteración de los mecanismos reguladores.

formación de anticuerpos. De hecho, la investigación detallada del autoantígeno tiroideo tiroglobulina permitió descubrir que no está secuestrado por completo dentro de la glándula, sino que gana acceso al líquido extracelular alrededor de los folículos y llega a la circulación a través de los linfáticos tiroideos (fig. 19-10). Incluso, dentro del encéfalo, la capacidad para inducir encefalitis de los clones de células T específicos para proteína básica de mielina inyectados en el sistema (véase pág. 499) revela la exposición al antígeno blanco. De hecho, en la mayoría de los casos (p. ej., eritrocitos en la anemia hemolítica autoinmune, RNP y componentes del nucleosoma presentes como ampollas en la superficie de las células apoptósicas de LES, y receptores de superficie en muchos casos de autoinmunidad específica de órgano) los linfocitos circulantes acceden con facilidad a los autoantígenos.

Se supone que los antígenos presentes en concentraciones adecuadas en el líquido extracelular son procesados por las CPA profesionales; pero en el caso de los autoantígenos asociados con células, los derivados peptídicos sólo muestran interacción productiva con células T específicas si hay moléculas de superficie CMH adecuadas, si la concentración de péptidos procesados asociados con ellos es significativa y, para las células T en reposo, si se pueden emitir señales coestimuladoras. Como se verá, éstas son restricciones importantes.

EL CONTROL DE LA CÉLULA T HELPER ES ESENCIAL

Entonces, el mensaje indica que todos están sentados sobre un campo minado de células autorreactivas, con acceso potencial a los autoantígenos respectivos; pero dado que las enfermedades autoinmunes son más la excepción que la regla, el organismo posee mecanismos homeostáticos para evitar que se desencadenen, en circunstancias normales. Con estas limitaciones, la figura 19-11 brinda un marco que permite analizar las formas de evitar los mecanismos para que se desarrolle la autoinmunidad. Se supone que la clave del sistema es el control de las células T helper autorreactivas, dado que las evidencias favorecen con firmeza la dependencia de las células T de casi todas las respuestas autoinmunitarias; así, la interacción entre la célula T y el péptido asociado con CMH se convierte en la consideración central. Se comienza con la presunción de que estas células no responden en condiciones normales, debido a la eliminación clonal, la anergia clonal, la supresión de células T o la presentación inadecuada del autoantígeno. De inmediato se puede concebir un grado *anormal* de respuesta a los autoantígenos, como consecuencia de la expresión intratímica relativamente baja de una molécula particular (véase pág. 462). Las anomalías de las vías de señal que afectan los umbrales para la selección positiva y negativa en el timo deberían además afectar las respuestas posteriores a los autoantígenos periféricos, como también los defectos en la muerte celular programada. Sería interesante conocer si la resistencia innata del ratón NZB a la tolerancia contra un antígeno proteico, por ejemplo albúmina sérica bovina, se puede atribuir a una de estas causas o si es consecuencia de defectos en las células reguladoras (véase más adelante).

LA AUTOINMUNIDAD PUEDE SURGIR AL SORTEAR LAS CÉLULAS T HELPER

Provisión de un nuevo determinante portador

Allison y Weigle indicaron en forma independiente que si se induce tolerancia en las células T autorreactivas, por lo que se tornan incapaces para colaborar con las células B y generar autoanticuer-

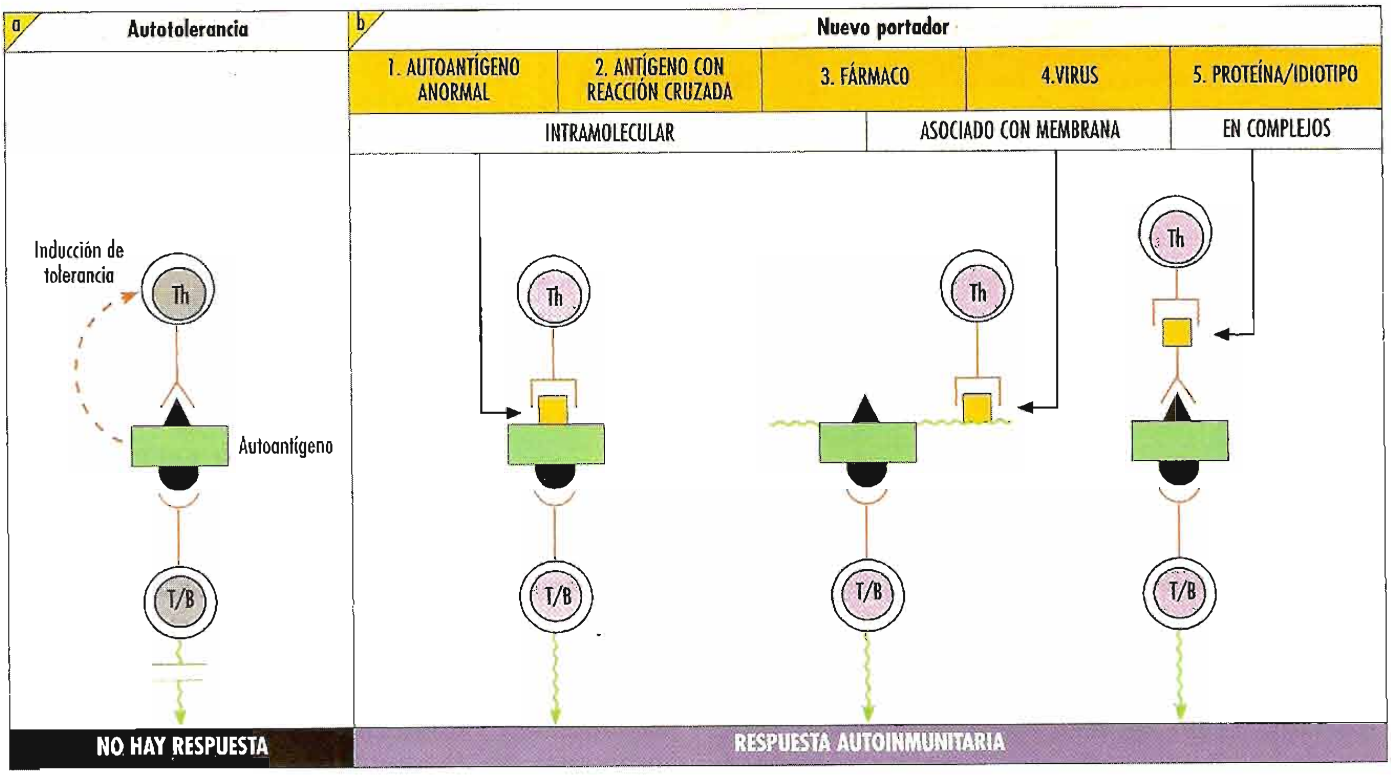


Fig. 19-12. El desvío alrededor de la célula T helper mediante un epítopo transportador nuevo (🟨) genera autoinmunidad. A los fines de simplicidad se ha omitido del diagrama el procesamiento de la asociación con CMH, que se elabora en la figura 19-13. **a)** La célula T helper autorreactiva esencial no responde debido a tolerancia o por incapacidad de detectar un epítopo críptico. **b)** Distintos mecanismos que proporcionan un nuevo epítopo transportador.

pos (figs. 19-12a y 19-15), el aporte de nuevos determinantes portadores para los cuales no se había establecido autotolerancia podría sortear este mecanismo y permitir la producción de autoanticuerpos (figs. 19-12b y 19-15).

1 Modificación del autoantígeno

Un portador nuevo podría surgir debido a modificaciones de la molécula, por ejemplo por defectos de síntesis o por una anomalía en el procesamiento lisosómico generadora de un producto desdoblado que exponga grupos nuevos (fig. 19-12b-1). Salvo la posibilidad de modificaciones postraduccionales, como cambios sutiles en los patrones de glucosilación, como se observa en la escasa galactosilación de las cadenas azúcar Fcγ en la artritis reumatoidea, muchos estudios sobre enfermedades autoinmunes espontáneas han sido incapaces de descubrir anomalías en el antígeno. Cabe recordar el experimento en el cual pollos de cepa obesa, recién nacidos timectomizados, elaboran autoanticuerpos si se les inyecta tiroglobulina preparada de pollos *normales*, lo que sugiere que sería anormal la respuesta inmune, y no el antígeno. Sin embargo, en esta cepa puede haber defectos en el metabolismo del yodo de la glándula (fig. 19-4), trabajos recientes demostraron que la severidad de la tiroiditis disminuye cuando las aves se alimentan con una dieta con bajo contenido en yodo.

La modificación también se puede lograr a través de la combinación con un fármaco (fig. 19-12b-3). La anemia hemolítica autoinmune asociada con la administración de α-metildopa se puede atribuir a la modificación de la superficie de los eritrocitos, de modo tal que proporcionan un portador capaz de estimular las células B que reconocen el antígeno rhesus. En general se considera que éste es un antígeno "débil" y es menos probable que induzca tolerancia en células B que los antígenos "fuertes" presentes en los eritrocitos. La isoniazida puede producir artritis asociada con anticuerpos nucleares; a diferencia de la mayoría de los casos de autoinmunidad inducida por fármacos, se dice que la síntesis de estos anticuerpos continúa tras la cesación de la terapéutica farmacológica. Una proporción elevada de pacientes sometidos a tratamiento prolongado con procainamida desarrolla anticuerpos nucleares y el 40% presenta signos clínicos de LES. Se han descrito miastenia grave y síntomas de pénfigo en algunos pacientes tratados con penicilamina. No queda claro en cada caso si el fármaco sirve como portador, a través de la modificación directa del autoantígeno o de alguna molécula independiente que interviene en el reconocimiento asociativo.

2 Reacciones cruzadas con epítopos para células B

Se conocen muchos ejemplos de la presencia de epítopos para células B humanas con potencial autoantigénico en un antígeno exógeno microbiano que forma reacciones cruzadas y proporciona el portador nuevo capaz de inducir la formación de autoanticuerpos (fig. 19-12b-2). El mecanismo se describe con mayor detalle en la figura 19-13a. Dos proteínas de envoltura de bajo peso molecular, provenientes de *Yersinia enterocolytica*, comparten epítopos con el dominio extracelular del receptor de la hormona estimuladora del tiroides humana (TSH); en la fiebre reumática los anticuerpos formados contra *Streptococcus* también reaccionan contra el corazón; el suero del 50% de los niños con la enfermedad que desarrollan corea de Sydenham presentan anticuerpos contra neuronas que se detectan por tinción inmunofluorescente, los cuales se pueden extraer con membranas estreptocócicas, para evitar la reacción con el sistema nervioso. Se demostró que los anticuerpos anticolónicos presentes en la colitis ulcerosa forman enlaces cruzados con *Escherichia coli* 014. Algunas evidencias avalan la opinión de que los antígenos comunes a *Trypanosoma cruzi*, músculo cardíaco y sistema nervioso periférico provocan algunas de las lesiones inmunopatológicas que se observan en la enfermedad de Chagas.

3 Mimetismo molecular de epítopos para células T

El inconveniente con el modelo de Allison-Weigle de la reacción cruzada de los epítopos para células B y el aporte de un nuevo portador de células T radica en que una vez que el agente de reacción cruzada es eliminado del organismo, y con él el epítopo para célula T, la célula B activada sólo puede mantener la autoinmunidad a través de la captura del autoantígeno circulante, su procesamiento y su presentación a la célula T helper (fig. 19-13c). Esto no es posible con los **antígenos asociados a las células**, pero el vínculo especial con el reconocimiento de las células T los ubica en una situación totalmente distinta. En este caso, si un agente infeccioso mimetiza un autoantígeno mediante la producción de un **epítopo para células T que forma reacciones cruzadas**, en teoría la autoinmunidad producida contra células T persistiría incluso tras la eliminación de la infección. En condiciones normales el autoantígeno será presentado a la célula T autorreactiva en reposo como un **epítopo críptico**, y por definición será incapaz de proporcionar una señal de activación. El agente infeccioso que genera reacción cruzada provee cantidad abundante de antígeno sobre las CPA profesionales capaces de programar la célula T y estimular las moléculas de adhesión, por lo que ahora tiene la **avidez** para fijarse y ser activado en forma persistente por el autoepítopo críptico presentado sobre la célula tisular blanco, siempre que esté asociada con la molécula CMH adecuada (fig. 19-13b). Cabe recordar las células T citotóxicas (Tc) transgénicas, capaces de destruir no sólo las células β pancreáticas portadoras de un transgén viral cuando son **programadas** por una infección viral real (véase fig. 12-10), y las células tumorales, que sólo se pueden reconocer mediante células T programadas que no estén en reposo (véase fig. 18-9). En teoría, las células T en reposo también se pueden programar en forma no específica para el antígeno, mediante un **superantígeno** microbiano.

Si bien se asignó el papel más importante de los alelos CMH como factores de riesgo para las enfermedades autoinmunes a su capacidad para presentar epítopos antigénicos clave a las células T autorreactivas, también podrían operar en una forma muy distinta. Cabe recordar que durante la ontogenia intratímica las células T son sometidas a selección positiva a través de la interacción débil con autopéptidos para formar complejos con el CMH. Dado que alrededor del **50% de los péptidos clase II derivan del CMH** (fig. 5-22), las células T maduras que abandonan el timo habrán sido seleccionadas con una fuerte tendencia hacia el reconocimiento débil de péptidos CMH propios presentados por la clase II. En consecuencia, debe haber un *pool* importante de células T autorreactivas, vulnerables a la estimulación mediante epítopos derivados por agentes exógenos que forman reacciones cruzadas y que mimetizan esos péptidos CMH. Y así es. La secuencia crítica QKRAAVDTY del alelo HLA-CDB1*0401 de susceptibilidad a artritis reumatoidea (cuadro 17-2) es bastante similar a la QKRAAYDQY de la proteína del shock térmico dnaJ de *E. Coli*, y este péptido, presentado por DQ, induce la proliferación de células T sinoviales en pacientes con AR. De hecho, se identificó gran

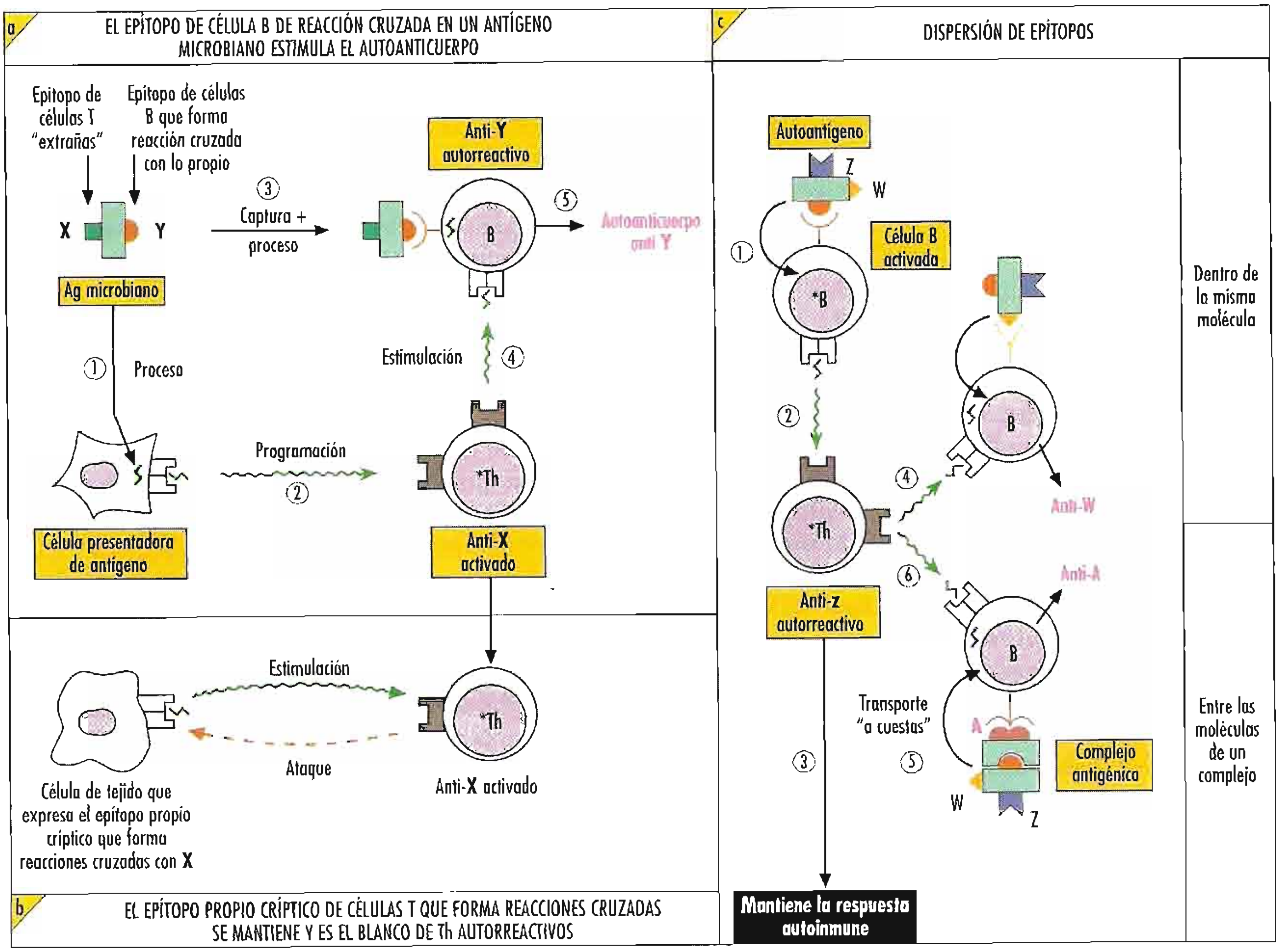

a
EL EPÍTOPO DE CÉLULA B DE REACCIÓN CRUZADA EN UN ANTÍGENO MICROBIANO ESTIMULA EL AUTOANTICUERPO
Epitopo de células T "extrañas"
Epitopo de células B que forma reacción cruzada con lo propio
X
Y
Ag microbiano
① Proceso
Célula presentadora de antígeno
Programación ②
③ Captura + proceso
Anti-Y autorreactivo
B
⑤
Autoanticuerpo anti Y
Estimulación ④
*Th
Anti-X activado
Estimulación
Ataque
*Th
Anti-X activado
Célula de tejido que expresa el epítopo propio críptico que forma reacciones cruzadas con X
b
EL EPÍTOPO PROPIO CRÍPTICO DE CÉLULAS T QUE FORMA REACCIONES CRUZADAS SE MANTIENE Y ES EL BLANCO DE Th AUTORREACTIVOS
c
DISPERSIÓN DE EPÍTOPOS
Autoantígeno
Z
W
①
Célula B activada
*B
②
*Th
Anti-z autorreactiva
③
④
⑥
B
Anti-W
Anti-A
B
Transporte "a cuestas"
⑤
A
Complejo antigénico
W
Z
Dentro de la misma molécula
Entre las moléculas de un complejo
Mantiene la respuesta autoinmune

Fig. 19-13. Mecanismos de inducción microbiana de la autoinmunidad y de la dispersión de epítopos. (Es un bocado complejo, pero se recomienda porque los conceptos son esenciales. Los menos decididos requerirán una bolsa de hielo y mucha persistencia; es útil seguir la numeración.) **a)** Un antígeno microbiano portador de un epítopo Y, que forma reacciones cruzadas con lo propio, y un epítopo X de célula T extraña es 1) procesado por una célula presentadora de antígeno, 2) activa la célula T helper que 3) reconoce el X procesado tras su captura por una célula B anti-Y, y 4) estimula la célula B para que secrete autoanticuerpo anti-Y. **b)** La célula T helper anti-X *activada*, diferente de la célula *en reposo*, puede reconocer y ser estimulada por un epítopo críptico de célula T que forma reacciones cruzadas, expresado por una célula tisular. Se mantiene así la respuesta autoinmunitaria incluso tras la eliminación del microorganismo, debido a la persistencia del epítopo propio. El tejido que expresa el epítopo también es un blanco de ataque inmunitario. Nótese además que una célula T programada en forma inespecífica por un activador de superantígeno policlonal también podría cumplir la misma función de responder a un epítopo críptico. c) Si el autoantígeno es soluble o capaz de ser captado y procesado tras su captura por la célula B autorreactiva 1) (a partir de a) o a través de activación policlonal no específica), se puede presentar un epítopo nuevo en la célula B clase II que ahora estimula una célula T helper autorreactiva (anti-Z) 2) que entonces puede sostener toda una respuesta autoinmunitaria a través de la estimulación por el autoantígeno 3). También produce dispersión de epítopos dentro de la misma molécula al ayudar a la célula B que captura el autoantígeno a través de un nuevo epítopo W 4). También puede permitir la dispersión de epítopos hacia otro componente de un complejo intermolecular, tal como una histona-DNA nucleosómica o la anti-DNA-DNA positivo para idiotipo (Id*), transportado a cuestas hacia el interior de la célula B 5), que presenta el antígeno procesado a la célula T helper 6) en los casos citados, específicos para histona o Id, respectivamente. *Denota activación.

parte de las secuencias peptídicas microbianas con grados variables de homología con las proteínas humanas (cuadro 19-5), si bien en esta etapa cabe destacar que sólo proporcionan claves para su estudio posterior. La mera existencia de una homología no implica seguridad de que la infección por ese microorganismo necesariamente conduzca a la autoinmunidad, dado que todo depende de varias contingencias, entre ellas la forma de procesamiento de las proteínas por las CPA y hasta el presente no se puede predecir qué peptidos serán presentados y en qué concentración.

Cuadro 19-5. *Mimetismo molecular: homologías entre microorganismos y componentes corporales como potenciales epítopos de células T que forman reacciones cruzadas*

Molécula microbiana	Componente corporal
Bacterias:	
Shigella flexneri artritogénica	HLA-B27
Nitrogenasa de *Klebsiella*	HLA-B27
Ureasa de *Proteus mirabilis*	HLA-DR4
hsp de 65 kDa de *Mycobacterium tuberculosis*	Articulación (coadyuvante de artritis)
hsp de DNAJ de *Escherichia coli*	Epítopo DRB1 de célula T compartido en AR
Virus:	
Coxsackie B	Miocardio
Coxsackie B	Descarboxilasa de ácido glutámico
EBV gp110	Epítopo DRB1 de célula T compartido en AR
Octámero de HBV	Proteína básica de mielina
Glucoproteína de HSV	Receptor de acetilcolina
Hemaglutinina de sarampión	Subtipo de células T
gag p32 retroviral	RNA U-1

4 Epítopos para células T "transportados a cuestas" y dispersión de epítopos

Un componente de membrana puede ser de ayuda para la respuesta inmune contra otro (reconocimiento asociativo). En el contexto de la autoinmunidad puede surgir un nuevo determinante helper a través de una modificación farmacológica, como ya se mencionó, o mediante la inserción del antígeno viral en la membrana de una célula infectada (véase fig. 19-12b-4). Se determinó la posibilidad de iniciar una reacción contra un componente celular preexistente, a partir de estudios sobre la infección de un tumor por virus de influenza, que indujo una resistencia contra las células tumorales no infectadas. La aparición de aglutininas frías, a menudo con especificidad de grupo sanguíneo I, tras una infección por *Mycoplasma pneumoniae* podría tener una explicación similar. De modo similar, se puede proporcionar ayuda de células T para moléculas como la de DNA, incapaces por sí mismas de formar un epítopo para célula T, a través de la generación de un complejo con un portador dependiente de T, en este ejemplo una histona, o un idiotipo anti-DNA para el cual estén sensibilizadas las células T. Para que este mecanismo actúe, el componente de ayuda debe permanecer físicamente adosado al fragmento portador del epítopo para célula B; cuando este complejo es reconocido por el receptor de célula B, el componente helper es "transportado a cuestas" hacia el interior de la célula B, procesado y presentado como epítopo para su reconocimiento por las células T (fig. 19-13c). De modo similar, la respuesta autoinmune se puede dispersar a otros epítopos de la misma molécula.

Mecanismos de desvío del idiotipo

Ya se analizaron las evidencias de redes de idiotipos con regulación interna, en las que interviene algún tipo de autorreactividad. Se origina así la posibilidad de relacionar los linfocitos autorreactivos con respuestas contra agentes exógenos, a través de conexiones de la red de idiotipos, en particular dado que algunas enfermedades autoinmunes se caracterizan a través de los principales idiotipos de reacción cruzada.

Así, dado que las células T helper con especificidad para el idiotipo sobre un receptor de linfocito pueden contribuir a la estimulación de esa célula, es concebible que un agente ambiental, por ejemplo un parásito o un virus, que desencadene un anticuerpo portador de un idiotipo público (idiotipo que forma enlaces cruzados, CRI) compartido con el receptor de una célula T o B autorreactiva, provoque una respuesta autoinmune (fig. 19-14b). De modo similar, si es correcto que los idiotipos de líneas germinativas en los autoanticuerpos generan una amplia gama de antiidiotipos que median la respuesta a los antígenos exógenos, entonces también sería cierto que los anticuerpos producidos en respuesta a una infección pueden reaccionar con el idiotipo correspondiente sobre el linfocito autorreactivo (fig. 19-14a). Por ejemplo, un hibridoma proveniente de un paciente con miastenia gravis secretaba un anti-Id contra un anticuerpo para un receptor de acetilcolina; se determinó que este anti-Id reaccionaba con el producto bacteriano 1,3-dextrán. Por último, es posible que las interacciones de la red de idiotipos permitan que una infección viral dé origen a autoanticuerpos capaces de reaccionar con el receptor viral (fig. 19-14c). Dado que todos los virus se fijan a receptores complementarios específicos sobre las células que infectan, esta secuencia de procesos puede tener severas consecuencias; nótese, por ejemplo, que los receptores betaadrenérgicos son los blancos superficiales para ciertos reovirus y que el virus de la rabia se fija al receptor de acetilcolina.

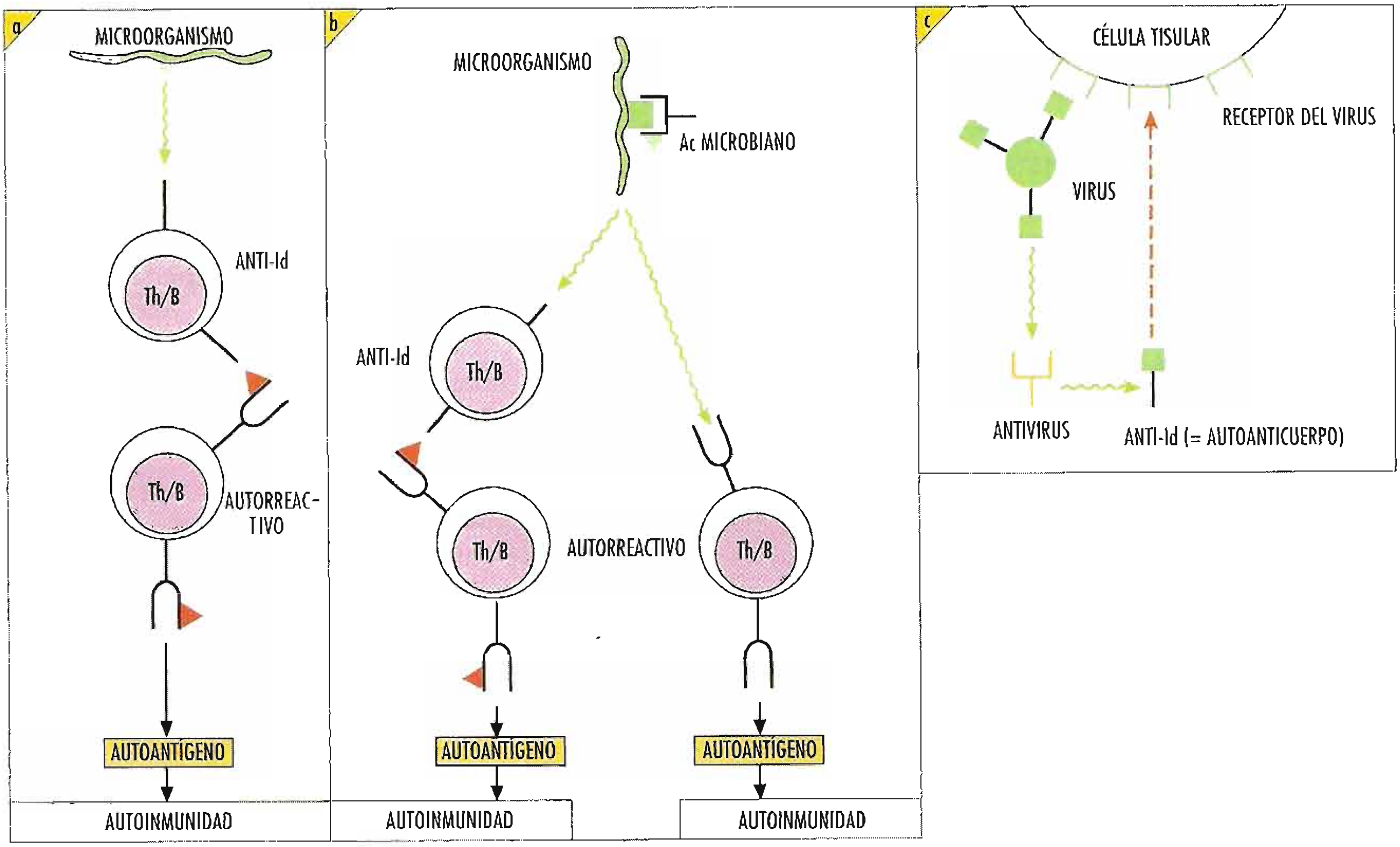

a
MICROORGANISMO
ANTI-Id
Th/B
Th/B
AUTORREAC-TIVO
AUTOANTÍGENO
AUTOINMUNIDAD
b
MICROORGANISMO
Ac MICROBIANO
ANTI-Id
Th/B
Th/B
AUTORREACTIVO
Th/B
AUTOANTÍGENO
AUTOANTÍGENO
AUTOINMUNIDAD
AUTOINMUNIDAD
c
CÉLULA TISULAR
RECEPTOR DEL VIRUS
VIRUS
ANTIVIRUS
ANTI-Id (= AUTOANTICUERPO)

Fig. 19-14. Mecanismos idiotípicos que conducen a la autoinmunidad. a) El antígeno microbiano forma reacciones cruzadas con el Id de linfocitos autorreactivos. **b)** Los anticuerpos microbianos comparten Id con los linfocitos autorreactivos o son anti-Id contra ellos. **c)** El antivirus genera anti-Id, que es un autoanticuerpo contra el receptor viral (Plotz).

Activación policlonal

A menudo los microorganismos exhiben propiedades coadyuvantes, a través de la posesión de activadores policlonales de linfocitos, como endotoxinas bacterianas, que proporcionan señales inductivas no específicas capaces de sortear la necesidad de ayuda por las células T específicas, ya sea a través de la estimulación de células T CD8 por incentivación de células dendríticas CD40 o por interacción indirecta con receptores de mitógeno de células B (véase pág. 191). Esto puede deberse a una interacción directa con el linfocito B, o, en forma indirecta, al estimular la secreción de factores inespecíficos por células T o macrófagos. La diversidad de autoanticuerpos detectados en los casos de mononucleosis infecciosa sin duda se debe atribuir a la activación policlonal de las células B por el virus de Epstein-Barr (EBV). También se encuentran en la lepra lepromatosa, en la cual la abundancia de micobacterias reproduce algunas de las características del coadyuvante de Freund. Sin embargo, a diferencia de la situación habitual en las patologías autoinmunes humanas, estos autoanticuerpos tienden a ser IgM y en condiciones normales no persisten tras la eliminación de los componentes microbianos del organismo. Es probable que en gran parte las reacciones afecten las células B-1. Es curioso que los linfocitos de muchos pacientes con LES y de ratones con lupus espontáneo produzcan cantidades anormalmente elevadas de IgM cuando se cultivan in vitro, como si estuvieran bajo activación policlonal. No obstante, es difícil determinar de qué manera la activación policlonal panespecífica puede dar origen a los patrones de autoanticuerpos característicos de los distintos trastornos autoinmunes sin que opere algún factor director de antígeno. Ya se hizo referencia a situaciones en las cuales las células T y B activadas en forma policlonal pueden contribuir a una respuesta autoinmune sostenida (véase epígrafe de la fig. 19-13b y c).

LA AUTOINMUNIDAD PUEDE SURGIR AL SORTEAR LOS MECANISMOS REGULADORES

Las células reguladoras tratan de amortiguar la autoinmunidad

Cabe destacar que estos mecanismos de evitar las células T helper para la inducción de autoinmunidad no aseguran por sí mismos la continuidad de la respuesta, dado que se demostró que los animales normales tienen capacidad para amortiguar la producción de autoanticuerpos a través de interacciones de células T reguladoras, por ejemplo en el caso de autoanticuerpos eritrocitarios inducidos en ratones por la inyección de eritrocitos de rata (fig. 19-15). Cuando se deteriora la actividad de las células T reguladoras, mediante la administración de dosis bajas de ciclofosfamida, o si se utilizan cepas como SJL, que poseen reguladores de envejecimiento prematuro, la autoinmunidad inducida es más prolongada y más severa. Otro ejemplo es la protección contra diabetes autoinmune y tiroiditis, que se desarrolla en ratas adultas timectomizadas e irradiadas ante la inyección de células T CD4$^+$, CD45RB^{ba}, RT6$^+$ provenientes de un donante normal. Este fenotipo (Tr1) es característico de las células reguladoras mucosas que median la tolerancia oral, producen IL-10 ante la activación y favorecen la diferenciación de las células T, que secretan TGFβ y desvían las respuestas hacia el polo tipo Th2. Esta noción concuerda con los hallazgos de que la generación de las células reguladoras que modulan la susceptibilidad puede estar influida por la flora intestinal: las ratas Fisher criadas en un medio libre de patógenos son susceptibles a artritis por coadyuvante (cuadro 19-4), a menos que se las traslade a un entorno convencional, si bien esta resistencia se pierde si se las alimenta con el antibiótico neomicina. Además, la resistencia se puede transferir a ratas susceptibles a través de células esplénicas estimuladas in vitro con determinantes C-terminales de la hsp65 micobacteriana. Esto se une a la supresión de diabetes en ratones DNO mediante la inyección de un péptido proveniente de hsp de mamífero. Otro elemento es la célula T NK1, que en los ratones DNO es deficiente, pero puede impedir el desarrollo de diabetes si se transfiere de donantes F1 (Balb/cxDNO). Por otra parte, pequeñas cantidades de un clon de células T encefalitogénicas **vacunaron** receptores normales contra las consecuencias patológicas de una dosis mayor posterior, lo que indica con claridad un control antiidiotipo. Las interrelaciones entre esta panoplia de reguladores de antígeno, de idiotipo, de hsp y posiblemente no específicos (fig. 19-16) aún se deben clasificar.

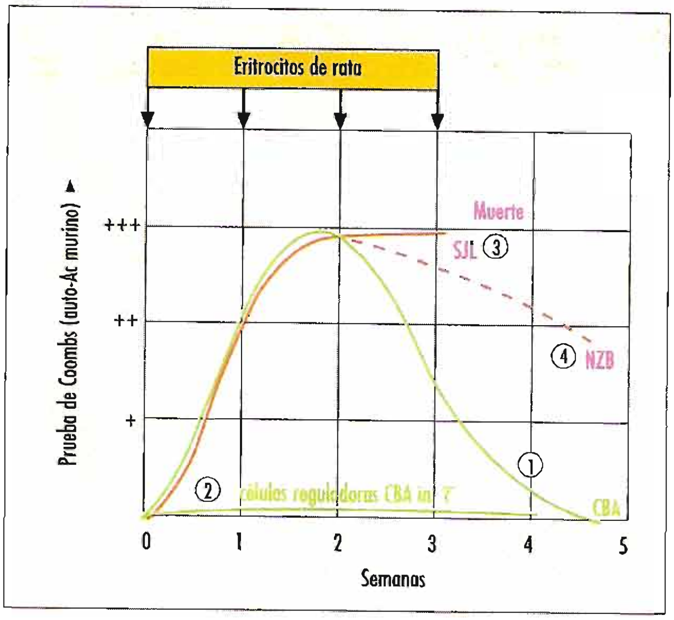


Fig. 19-15. Regulación de la autorreactividad. Cuando en ratones de cepa CBA 1) se inyectan eritrocitos de rata, estos antígenos de reacción cruzada inducen la elaboración de autoanticuerpos (véase pág. 472), que recubren los eritrocitos del huésped y se detectan mediante la prueba de antiglobulina de Coombs (véase pág. 381). A pesar de las inyecciones repetidas de eritrocitos de rata, la respuesta de autoanticuerpo es inactivada por la expansión de células reguladoras CD4 específicas de eritrocitos de ratón, que no afectan la producción de anticuerpos contra los determinantes eritrocitarios heterólogos. Cuando se inyectan estas células reguladoras en ratones CBA no programados 2), los eritrocitos de rata no pueden inducir la producción de anticuerpos. La cepa SJL 3), en la cual la actividad supresora declina rápidamente con la edad, es incapaz de regular la respuesta autoinmune y desarrolla una enfermedad muy grave. La respuesta también es prolongada en la cepa NZB autoinmune 4). (Basado en datos de Cooke A & Hutchings P. *Immunology* 1984, 51, 489.)

La timectomía neonatal elimina autorreguladores potenciales

En general se debe aceptar que las manipulaciones que reducen las células T reguladoras alientan el desarrollo de autoanticuerpos. Pero el efecto de la timectomía en ratones, dentro de un estrecho margen de 2-4 días posteriores al nacimiento, es sorprendente, dado que da origen a una amplia patología autoinmune específica de órgano que afecta sobre todo el estómago, el tiroides, el ovario, la próstata y los espermatozoides; a menudo se detectan anticuerpos circulantes, y alrededor de las

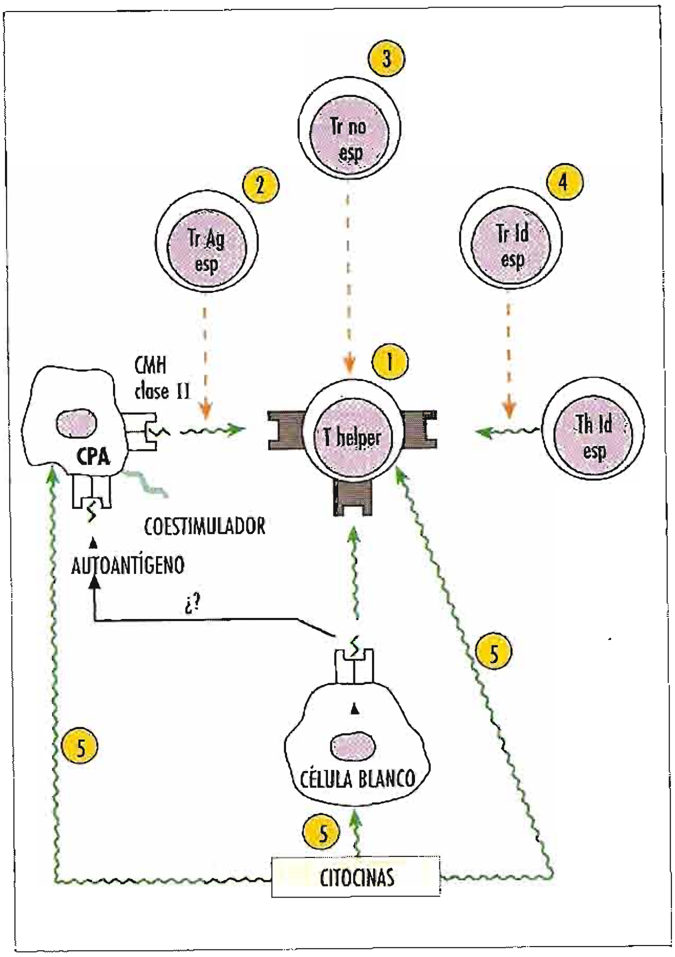


Fig. 19-16. El sortear los mecanismos reguladores conduce a la activación de células T helper autorreactivas a través de defectos en 1) la capacidad de inducir tolerancia o la de responder o de inducir las células T reguladoras (Tr), o 2) la expresión de células T reguladoras específicas de antígeno, 3) hsp y otras no específicas, o 4) específicas de idiotipo, o 5) inducir el desequilibrio de la red de citocinas, lo que produce la depresión de los genes de clase II, con expresión inadecuada de células clase II y la presentación de antígeno sobre las células blanco, la estimulación de CPA y la posible activación de células T helper anérgicas. El efecto beneficioso de un *pool* de Ig enteras en enfermedades autoinmunes humanas determinadas, por ejemplo púrpura trombocitopénica idiopática, y de la vacunación con células T en la encefalomielitis autoinmune experimental (EAE) y la artritis coadyuvante en ratas, avala el concepto de los mecanismos de control por idiotipo. Las evidencias a favor de un subtipo CD4 regulador provienen de estudios que informan la presencia de infiltrados inflamatorios en hígado, pulmón, estómago, tiroides y páncreas en ratas timectomizadas reconstituidas con células T CD45RB$^{\text{al}}$/CD4, pero no con células no fraccionadas o CD45RB$^{\text{ba}}$/CD4 (que se supone son las reguladoras).

membranas basales se suelen observar depósitos de Ig y complemento. Las células esplénicas provenientes de machos adultos intactos, pero no de hembras, inyectadas en estos ratones timectomizados de 3 días pueden impedir el desarrollo de prostatitis, aunque ambas pueden impedir la gastritis, de lo que se puede concluir que el macho adulto posee células T supresoras adicionales específicas para la próstata y activadas por los antígenos prostáticos. Ya se hizo referencia a las evidencias de expresión intratímica de mRNA para todo un conjunto de antígenos nominalmente específicos de órgano, como insulina, tiroglobulina y proteína básica de mielina, expresadas en escasas células medulares grandes que a menudo se encuentran en el centro de rosetas de linfocitos y que, se supone, guían la formación de reguladores supresores específicos de órgano potenciales entre los días 2 y 4, momento en el cual la timectomía altera el equilibrio entre las células autorreactivas y las supresoras.

Si en realidad la timectomía neonatal elimina la mayor parte de la población de células T supresoras, no sorprende del todo la inducción o la exacerbación tempranas de los estados autoinmunes espontáneos en animales susceptibles (anemia hemolítica autoinmune en ratones NZB y tiroiditis en pollos de cepa obesa o ratas búfalo).

Los defectos en la regulación contribuyen a la autoinmunidad espontánea

Ésta sería la conclusión, tras la demostración de que se puede inhibir la transferencia de la enfermedad desde los esplenocitos de ratones DNO con diabetes reciente a los congénitos DNO-SCID mediante el subtipo esplénico CD4, CD45RB$^{\text{ba}}$ (memoria) en animales jóvenes y no diabéticos. De modo similar, hace tiempo se demostró que la positividad de la prueba de Coombs (o sea el estado en el cual los eritrocitos están recubiertos por autoanticuerpos) se puede transferir con las células esplénicas de un ratón NZB positivo para Coombs a un *ratón negativo joven* de la misma cepa; pero la producción continua de anticuerpos antieritrocitarios es de corta vida, a menos que se eliminen las células T del receptor a través de un pretratamiento con suero antilinfocitario.

La pérdida progresiva de células reguladoras con la edad podría ser responsable de la incapacidad del ratón NZB para normalizar la inducción experimental de autoinmunidad eritrocitaria (fig. 19-15) y para la creciente resistencia a la inducción de tolerancia contra proteínas solubles en ratones NZB de edad avanzada, en apariencia asociada con un descenso súbito de la concentración plasmática del péptido tímico timulina antes del inicio de la enfermedad (*nota*: se dice que la timulina inhibe la respuesta autorreactiva de las células esplénicas ante fibroblastos singénicos en cultivos).

Cabe preguntarse si las anomalías de los mecanismos apoptósicos contribuyen a estos defectos reguladores. Las células B y T de los ratones DNO son resistentes a la apoptosis, al igual que los linfocitos de la cepa murina lúpica MRL/*lpr*, que contiene una mutación en el gen *fas*. Esta mutación produce la linfoproliferación característica y, quizá, la incapacidad de limitar la expansión de los clones de células T y B autorreactivas por apoptosis. El modelo lúpico *gld* complementa esta situación con mutaciones en el *ligando fas*.

Las respuestas a células T periféricas son muy bien controladas por células dendríticas. El subtipo con fenotipo CD11c$^+$/b$^-$/8α^+ favorece las células Th1, mientras que el CD11 c$^+$/b$^+$/8α^- estimula las respuestas Th2. La IL-4 impide la maduración de las células dendríticas; la interacción ulterior de estas células inmaduras con células T afines induce la tolerancia periférica. La señal CD30/CD30L es importante para la eliminación periférica de las células T autorreactivas; en consecuencia, la eliminación de las células T CD8 reactivas de los islotes pancreáticos no se produce en ratones por noqueo CD30; son células muy agresivas, tanto que apenas 150 provocan diabetes en los receptores adoptivos. La cantidad de células dendríticas en seres humanos en situación de riesgo de diabetes y en ratones DNO está muy disminuida, de acuerdo con su papel crítico en la prevención de la enfermedad al favorecer las respuestas autorreguladoras. Otra característica curiosa radica en que los macrófagos de pacientes diabéticos y sus parientes con el haplotipo HLA susceptible expresan en forma constitutiva niveles elevados de la enzima COX-2, responsable de la síntesis de prostanoides. En todo eso hay algo oculto, que pronto debería salir a la superficie.

Ya se llamó la atención sobre las propiedades distintivas de la población B-1 en relación con su propensión a la síntesis de autoanticuerpos IgM y su posible relación íntima con el establecimiento de la red de idiotipos reguladores (véase pág. 232), o se debe considerar con seriedad la hipótesis de que la actividad no regulada por estas células sería responsable de ciertos trastornos autoinmunes. La cepa que recibe el lamentable nombre de apolillada es sometida a grandes sufrimientos debido a la autoinmunidad; los ratones forman masas de anti-DNA y antipolimorfonucleares, y mueren con intensa neumonitis a menudo antes de haber probado los frutos de la vida. En ellos se observa disminución de la actividad catalítica de la proteína tirosina fosfatasa 1C debida a mutación. Los niveles de IgM se elevan en proporción asombrosa, unas 25-50 veces los valores normales, y, lo que es extraño, las células B son casi todas CD5$^+$, o sea B-1. Esta población también aumenta en el ratón NZB y en gran parte es responsable de la producción de los autoanticuerpos IgM en esta cepa. Aquí hay un experimento persuasivo. Cuando se introdujeron transgenes codificadores de un anticuerpo antieritrocitario NZB en ratones normales, no se encontraron células B-2 y el 50% desarrolló enfermedad autoinmune. La inyección intraperitoneal de eritrocitos eliminó las células B-1 y previno la enfermedad, lo que indica que la anemia hemolítica de NZB se debe a autoanticuerpos antieritrocitarios producidos por las células B-1, que esta población sólo es inducida a la tolerancia en forma adecuada cuando el antígeno gana acceso al peritoneo, donde se desarrolla, y que algunos animales (alrededor del 50%), pero no todos, pueden controlar los clones autorreactivos. Aún queda sin respuesta el interrogante de si las células B-1 escapan al control regulador y sufren una modificación irrestricta de isotipo hacia los anticuerpos IgG patógenos, reponsables de la enfermedad en otros modelos como el ratón NZB×W, si bien la eliminación de los linfocitos B-1 disminuye mucho la glomerulonefritis por inmunocomplejos. Se identificó el idiotipo IdD-23, característico de los autoanticuerpos naturales, en una IgG anti-DNA monoclonal, pero un idiotipo no hace verano, parodiando el refrán.

En seres humanos una proporción elevada de células B-1 elabora factores reumatoideos IgM (anti-Fcγ) y anti-DNA mediante genes de línea germinativa. Si bien en los pacientes con artritis reumatoidea hay cantidades aumentadas de células B-1 circulantes, los factores reumatoideos policlonales sintetizados en general no portan los idiotipos públicos de este subtipo. El caso del LES podría ser diferente, debido a que el idiotipo público 16/6, asociado con los genes de línea germinativa que codifican anti-DNA, se encuentra en una fracción significativa del IgG anti-DNA en el suero de los pacientes. Se pueden requerir secuencias de genes para establecer la relación entre las células B-1 y la síntesis de autoanticuerpos IgG.

Además del circuito de retroalimentación IL-1/6-hipotalámica defectuosa, ya descrita, que da origen a bajos niveles de corticosteroides en pacientes con artritis reumatoidea (véase fig. 19-7), poco se sabe sobre los circuitos reguladores en seres humanos, aunque hay evidencias crecientes de que la función de las células T supresoras no específicas en LES puede estar mal regulada. Los linfocitos B provenientes de pacientes con enfermedad activa secretan mayores cantidades de Ig que las células B normales, cuando se cultivan in vivo. Los supresores no específicos inducidos por concanavalina A están disminuidos en número o ausentes, y las células T con receptores Fcγ, que suprimen los linfocitos estimulados por mitógeno de fitolaca, son escasas; el defecto es mayor cuanto más activa es la enfermedad. En estos pacientes también está deprimida la producción de timulina y de IL-2. Una proporción significativa de parientes cercanos sin afección clínica también tienen niveles anormales bajos de supresores no específicos, lo que indica que la deficiencia en pacientes con LES no es consecuencia de la enfermedad o de su tratamiento y que en la generación de la enfermedad deben intervenir factores adicionales.

En todo caso, es difícil considerar la especificidad antigénica de distintos trastornos autoinmunes sobre la base de una depresión generalizada del supresor no específico *aislado*, sin invocar defectos de las células T supresoras específicas de antígeno o de idiotipo. Sin embargo, existe otra posibilidad que ha despertado gran interés.

Estimulación de las moléculas de interacción con las células T

La mayoría de los autoantígenos específicos de órgano normalmente aparecen en la superficie de las células del órgano blanco en el contexto de las moléculas CMH clase I, pero no en el de las de clase II. En consecuencia, no se pueden comunicar con las células T helper y son silenciosas desde el punto de vista inmunitario. Pujol-Borrell, Bottazzo y col. razonaron que si, de alguna manera, los genes clase II se desreprimen y ahora se sintetizan las moléculas clase II, entonces éstas dotarían a las moléculas de superfice de autoantigenicidad potencial (fig. 19-16). De hecho, pueden demostrar que las células tiroideas humanas en cultivo de tejido pueden ser inducidas a expresar moléculas HLA-DR (clase II) en sus superficies, tras la estimulación con interferón gamma (IFNγ) y, además, que el citoplasma de las células epiteliales provenientes de las glándulas de pacientes con enfermedad de Graves (tirotoxicosis) se tiñe con intensidad con reactivos anti-HLA-DR, lo que indica la síntesis activa de cadenas polipeptídicas clase II (fig. 19-1b). También se informó la expresión inadecuada de clase II en los conductillos biliares de pacientes con cirrosis biliar primaria y en células endoteliales y en algunas células β en el páncreas diabético de seres humanos y del modelo de rata BB.

Aún resta la cuestión de si la expresión accidental de clase II en estas células, a través de la activación debida, por ejemplo, a IFN inducido por virus, es responsable de *iniciar* el proceso autoinmune a través de la programación de células T helper autorreactivas, o si la reacción con células T *ya activadas* incluye clase II por liberación de IFNγ y transforma la célula en un blanco más atractivo para provocar daño tisular posterior. Sin embargo, la transfección de ratones con los genes *H-2A* clase II vinculados con el incentivador de insulina indujo la expresión de clase II en las células de los islotes β del páncreas, pero *no* la autoinmunidad. La ausencia de moléculas coestimuladoras B7 parece ser responsable del fracaso de estas células β clase II positivas para activar las células T no programadas, trabajo que se debe delegar en las CPA dendríticas profesionales.

El desequilibrio de citocinas puede inducir la autoinmunidad

En contraste, la transfección con el gen *IFNγ* en el estimulador de insulina bajo las mismas circunstancias produjo una reacción inflamatoria local en el páncreas con la expresión aberrante de clase II *y* diabetes; debe ser consecuencia de autoinmunidad, dado que un páncreas normal injertado en el mismo animal tuvo un destino similar. Esto implica que la elaboración no regulada de citocinas, que produce una reacción inflamatoria local, puede iniciar la autoinmunidad, probablemente por incentivar la presentación del antígeno de los islotes al reclutar y activar las células dendríticas, al incrementar la concentración de autoantígeno intracelular procesado disponible para ellas y al aumentar su avidez por células T no programadas a través de la estimulación de las moléculas de adhesión; quizá se pueda lograr que las células antes anérgicas respondan al antígeno (fig. 19-16). Una vez programadas, las células T podrán interactuar con las células de los islotes β que presentarán cantidades aumentadas de clase II y moléculas de adhesión para células T en su superficie.

Todo esto parece bastante obvio, pero si bien otras citocinas proinflamatorias, IL-12 y TNF, además de IFNγ, pueden estimular la inducción de la enfermedad autoinmune específica de órgano en una etapa temprana, a través de la programación de respuestas Th1 patogénicas, la expresión tardía de las mismas citocinas parece inducir la diferenciación terminal y la muerte de las células T autorreactivas. En consecuencia, se pueden corregir algunos modelos espontáneos de enfermedad autoinmune mediante la inyección de citocinas: la IL-1 cura la diabetes en ratones DNO, el factor de necrosis tumoral (TNF) impide el inicio de los síntomas de LES en híbridos NZB×W y se sabe que el factor de crecimiento en transformación β1 (TGBβ1) protege contra la artritis por colágeno y recidivas de encefalomielitis autoinmune experimental (EAE). Los efectos pleiotrópicos de las citocinas sobre distintos tipos celulares que intervienen en diferentes estadios de estas enfermedades, y las interacciones reticulares positivas y negativas entre sí, agregan cierta incertidumbre al análisis y predicen estos complejos procesos.

LOS TRASTORNOS AUTOINMUNES SON MULTIFACTORIALES

Es necesario volver a este tema. Sin duda las enfermedades autoinmunes tienen etiologías multifactoriales, en las que se combinan rasgos poligénicos e infuencias ambientales. Muchos de los defectos analizados no son infrecuentes aislados, pero en diversas combinaciones pueden contribuir a distintos trastornos. Ningún gen es suficiente o necesario para el inicio de la enfermedad y en cualquier individuo la susceptibilidad a la enfermedad, la presentación en términos de severidad en el órgano blanco y el pronóstico reflejan efectos aditivos o epistáticos de varios alelos heredados en forma aleatoria, muchos de los cuales pueden ser compartidos con otras patologías autoinmunes. Incluso en una cepa de ratones predispuesta a la enfermedad, que expresa un espectro idéntico de genes de susceptibilidad, la proporción de animales que desarrolla la patología autoinmune (penetrancia) aumenta con la edad, lo que sugiere que la expresión de estos rasgos complejos requiere que se desencadenen los procesos en forma interna estocástica o ambiental, cuya probabilidad se incrementa con el tiempo. En consecuencia, superpuesto sobre una susceptibilidad compleja desde el punto de vista genético, se podría tratar de un proceso de envejecimiento que afecta el timo o las células madre linfáticas y su control interno de autorreactividad. Las hormonas sexuales y los circuitos de retroalimentación hipófisis-suprarrenales defectuosos también pueden contribuir. Entonces a esta mezcla habría que agregar una panoplia de factores dietarios y ambientales de otro tipo, en particular agentes microbianos, que podrían tener diversos efectos sobre los órganos blanco, el sistema linfoide y la red de citocinas.

RESUMEN

El sistema inmune mantiene un equilibrio precario entre las respuestas efectivas contra antígenos ambientales y el control regulador de un conjunto de respuestas potencialmente suicidas a las moléculas propias.

Alcance de las enfermedades autoinmunes

- La autoinmunidad se asocia con ciertas enfermedades que forman un espectro. En un polo, ejemplificado por la tiroiditis de Hashimoto, los autoanticuerpos y las lesiones son **específicas de órgano** que actúa como blanco del ataque autoinmune; en el otro polo se encuentran las **enfermedades autoinmunes sistémicas** o **no específicas de órgano**, como el LES, en las cuales los autoanticuerpos tienen amplia reactividad y las lesiones se asemejan a las de la enfermedad del suero relacionadas con el depósito de inmunocomplejos circulantes.
- En los trastornos específicos de órgano como la tiroiditis y la anemia perniciosa hay una tendencia a la superposición en individuos particulares, mientras que la superposición de los trastornos reumáticos es mayor que lo esperable por el azar.
- Existe una cantidad de modelos de enfermedades autoinmunes específicas de órgano y sistémicas que aparecen en forma espontánea (p. ej., ratones diabéticos no obesos o híbridos NZB×W con LES) o se pueden inducir en forma experimental [p. ej., tiroiditis por tiroglobulina en coadyuvante completo de Freund y quizá LES por inmunización con Id* anti-DNA monoclonal en este mismo coadyuvante].

Influencias genéticas y ambientales

- Los factores genéticos multifactoriales incrementan la predisposición a la enfermedad autoinmune: entre ellos se incluyen tipo de tejido

HLA, la predisposición a la autoinmunidad agresiva y la selección de autoantígenos potenciales.

- Las mujeres presentan una incidencia mucho mayor de autoinmunidad que los varones, quizá debida a influencias hormonales.
- El control por retroalimentación de los linfocitos a través del circuito citocinas-hipotálamo-hipófisis-suprarrenales puede presentar defectos, como se observa en la artritis reumatoidea.
- Los estudios realizados en gemelos idénticos indican una fuerte influencia del ambiente en muchos trastornos; se sospechan efectos de factores microbianos y no microbianos.

La autorreactividad es natural

- Las células B-1 forman un *pool* de células que se estimulan mutuamente en forma espontánea para producir "anticuerpos naturales", los cuales interactúan por su idiotipo y a menudo muestran autorreactividad multiespecífica.
- El sistema inmune parece poseer un conjunto de células T dirigidas a una cantidad limitada de autoantígenos dominantes que están muy controlados.

La autoinmunidad ¿es dirigida por el antígeno?

- En los modelos espontáneos de diabetes y tiroiditis la eliminación del antígeno impide la autoinmunidad.
- El desarrollo de anticuerpos mutantes de gran afinidad y las respuestas inmunes a cúmulos de antígenos relacionados anatómicamente implican con firmeza la selección de autoantígenos por las células B.
- Se desconocen las especificidades de células T en la autoinmunidad sistémica, pero pueden ser un antiidiotipo.
- La mayoría de los autoantígenos son accesibles a los linfocitos circulantes, los cuales en condiciones normales incluyen las células T y B autorreactivas. Los autoantígenos dominantes pueden inducir tolerancia, pero las células T específicas para los péptidos presentados en bajas concentraciones (epítopos crípticos) serán autorreactivas en potencia.

La célula T helper es esencial para el control

- Se presupone que la clave del sistema es el control de las células T helper autorreactivas, que en condiciones normales no responden debido a eliminación clonal, anergia clonal, supresión de células T o procesamiento inadecuado del autoantígeno.

La autoinmunidad puede surgir al sortear las células T helper

- La modificación anormal del autoantígeno, la reacción cruzada con antígenos exógenos o el reconocimiento "transportado a cuestas" de epítopos de células T helper pueden proporcionar nuevos determinantes portadores y dispersión de epítopo.
- Las células T helper también pueden ser sorteadas por las interacciones de las redes de idiotipo, con reacciones cruzadas entre los idiotipos públicos sobre los anticuerpos y los anticuerpos microbianos o los propios microbios, o por anticuerpos formados contra idiotipos antivirales que se comportan como imágenes internas del virus y reaccionan con el receptor viral de la superficie celular.
- Por último, las células B y T se pueden estimular en forma directa a través de activadores policlonales como el virus EB o los superantígenos.

La autoinmunidad puede surgir al sortear los mecanismos reguladores

- El hecho aislado de sortear las células T helper puede ser insuficiente para *mantener* la autoinmunidad; en general se considera necesario un defecto en las células que normalmente regulan la autoinmunidad.
- Esto podría deberse a la incapacidad de las células T helper de transformarse en tolerantes, o responder a las células T supresoras, o inducirlas.
- También podría surgir debido a defectos en los sistemas de células T supresoras específicas de antígeno o de idiotipo y hsp, y quizá otros no específicos.
- Otra posibilidad sería la desrepresión de genes de clase II, que da origen a la expresión celular inadecuada de clase II para romper el "silencio" entre el autoantígeno celular y la célula T inductora autorreactiva.

CAPÍTULO 20

Enfermedades autoinmunes

2. Patogenia, diagnóstico y tratamiento

www.el12cirujano.blogspot.com/

Introducción, 483
Efectos patógenos de los autoanticuerpos humorales, 483
  Células sanguíneas, 483
  Receptores de superficie, 484
  Otros tejidos, 485
Efectos patógenos de los complejos con autoantígenos, 487
  Lupus eritematoso sistémico (LES), 487
  Artritis reumatoidea, 491
La hipersensibilidad mediada por células T como factor patógeno en la enfermedad autoinmune, 494
  Otra vez artritis reumatoidea, 494
  Enfermedad endocrina específica de órgano, 496
  Esclerosis múltiple (EM), 499
  Psoriasis, 499
Algunos otros trastornos vasculares sistémicos con componentes inmunopatológicos, 499
Valor diagnóstico de las pruebas de autoanticuerpos, 502
Tratamiento de trastornos autoinmunes, 502
  Control en el nivel del órgano blanco, 502
  Fármacos antiinflamatorios, 505
  Fármacos inmunosupresores, 505
  Estrategias de control inmunitario, 506
Resumen, 511
Lecturas adicionales, 515

INTRODUCCIÓN

Ahora se analizarán las evidencias que permiten descubrir los mecanismos por los cuales la autoinmunidad, sin importar su origen, desempeña un **papel patógeno primario** en la producción de lesiones tisulares dentro del grupo de enfermedades rotuladas como "autoinmunes".

EFECTOS PATÓGENOS DE LOS AUTOANTICUERPOS HUMORALES

Células sanguíneas

Los anticuerpos eritrocitarios desempeñan un papel dominante en la destrucción de eritrocitos en la **anemia hemolítica autoinmune**. Los eritrocitos normales recubiertos por autoanticuerpo eluido proveniente de glóbulos rojos positivos para Coombs (véase fig. 16-16) tienen una vida media más corta tras la reinyección en sujetos normales, en principio debido a su adherencia a receptores Fcγ sobre las células fagocíticas del bazo. Cabe recordar también que las células B-1 en un ratón portador de un transgén codificador de autoanticuerpo antieritrocitario de ratón New Zealand Black (NZB) producen enfermedad hemolítica (véase pág. 477). Para comprobar el caso de las células B-1 más allá de toda duda razonable, cualquier manipulación de ratones NZB que elimine estas células, por ejemplo, la inyección intraperitoneal de agua, el tratamiento con antiinterleucina (IL)-10, o la introducción del gen *xid,* impide el desarrollo de anemia hemolítica.

Algunos niños con inmunodeficiencia asociada con recuentos leucocitarios muy bajos poseen un factor linfocitotóxico sérico que requiere complemento para activarse. La linfopenia que se observa en pacientes con lupus eritematoso sistémico (LES) y artritis reumatoidea (AR) también puede ser consecuencia directa de un anticuerpo, dado que en estos casos se informó la presencia de anticuerpos no aglutinantes que recubren los glóbulos blancos.

Los anticuerpos antiplaquetarios parecen responsables de la **púrpura trombocitopénica idiopática** (PTI). La administración de IgG proveniente del suero de un paciente a un individuo normal produce depresión del recuento de plaquetas, y el principio activo se puede eliminar por absorción a plaquetas. La trombocitopenia neonatal transitoria que se observa en los lactantes hijos de madres con PTI se explica en términos de pasaje transplacentario de anticuerpos IgG al niño.

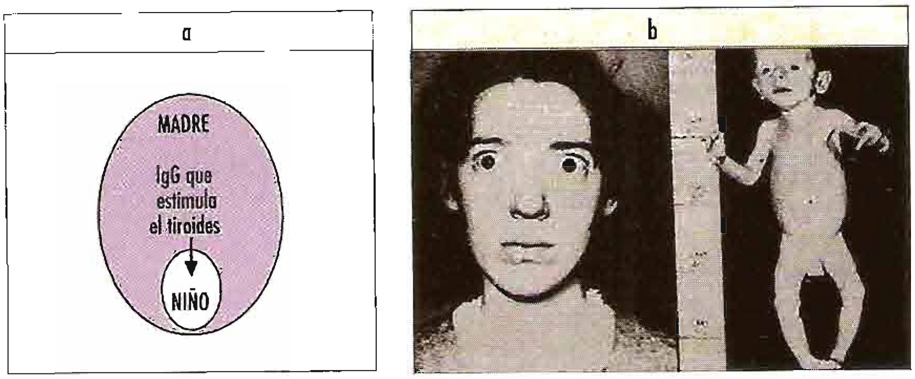


Fig. 20-1. Tirotoxicosis neonatal. a) Los autoanticuerpos que estimulan el tiroides por medio de los receptores de TSH son IgG y atraviesan la placenta. **b)** En consecuencia, la madre tirotóxica da a luz una criatura con hiperactividad tiroidea que se resuelve en forma espontánea a medida que cataboliza la IgG de la madre. (Fotografía gentileza del profesor A. MacGregor.)

El **síndrome antifosfolipídico** primario se caracteriza por un fenómeno tromboembólico arterial y venoso recurrente, pérdida fetal recurrente, trombocitopenia y anticuerpos contra cardiolipina. La transferencia pasiva de estos anticuerpos a ratones tiene efectos devastadores, pues disminuye las tasas de fecundidad e induce pérdida fetal recurrente. El efecto parece estar mediado por la reacción de los autoanticuerpos con un complejo de cardiolipina y β_2-glucoproteína 1 que inhibe la iniciación de la cascada de la coagulación. El trofoblasto placentario es un blanco esencial para estos anticuerpos, dado que el citotrofoblasto de las vellosidades es uno de los pocos tipos celulares que externalizan fosfatidilserina durante el desarrollo.

Receptores de superficie

Tiroides

Bajo ciertas circunstancias, los anticuerpos contra la superficie de una célula pueden estimularla en lugar de destruirla (véase "hipersensibilidad estimuladora"; cap. 16). Éste parece ser el caso de la **enfermedad de Graves** (tirotoxicosis o enfermedad de Basedow), donde se observó un vínculo directo con la autoinmunidad cuando Adams y Purves descubrieron actividad estimuladora de tiroides en el suero de estos pacientes (hito 19-1), que por último se demostró que se debía a la presencia de anticuerpos contra receptores de TSH (TSH-Rs) que parecen actuar de la misma manera que la TSH (véase pág. 393). Ambos operan por medio del sistema de la adenilciclasa, como indica el efecto potenciador de la teofilina, y producen cambios similares en la morfología ultraestructural de la célula tiroidea, pero es uno de los "experimentos de transferencia pasiva" de la naturaleza, que vinculan en forma más directa los anticuerpos contra TSH-R con la patogenia de la enfermedad de Graves. Cuando los anticuerpos estimuladores del tiroides (TSAc) de una madre tirotóxica atraviesan la placenta inducen la producción de hipertiroidismo neonatal (fig. 20-1), que se resuelve tras algunas semanas, a medida que se cataboliza la IgG materna.

Hay una buena correlación entre el título de TSAc y la severidad del hipertiroidismo. Dado que TSAc actúa con independencia del eje hipófisis-tiroides, la captación de yodo por la glándula no se ve afectada por la administración de tiroxina o triyodotironina, mientras que en condiciones normales causaría inhibición por retroalimentación y supresión de la captación; esto conforma la base de una importante prueba diagnóstica de tirotoxicosis.

Hay razones para creer que el aumento de tamaño del tiroides en esta patología se debe a la acción de anticuerpos que reaccionan con un receptor de "crecimiento" y estimulan en forma directa la división celular, a diferencia de la hiperactividad metabólica. Por el contrario, el suero de pacientes con **mixedema primario** (tiroiditis atrófica) contiene anticuerpos capaces de bloquear la estimulación del crecimiento por TSH, lo que impide la regeneración de folículos característica del **bocio de Hashimoto** aumentado de tamaño. A menudo se asocia la enfermedad de Graves con exoftalmia, que se puede deber a reacciones cruzadas de anticuerpos contra una proteína de membrana de 64 kDa presente en el tiroides y en el músculo ocular.

Músculo y nervios

La debilidad muscular transitoria que se observa en una proporción de los bebés nacidos de madres con **miastenia gravis** recuerda la de la trombocitopenia neonatal y el hipertiroidismo, y sin duda sería compatible con el pasaje transplacentario de una

IgG capaz de inhibir la transmisión neuromuscular. Este punto de vista es avalado por los consecuentes hallazgos de anticuerpos contra receptores musculares para acetilcolina (Ach-Rs) en pacientes con miastenia y la eliminación de estos receptores en las placas terminales motoras. Además, los síntomas de miastenia se pueden inducir en animales por medio de la inyección de anticuerpos monoclonales contra Ach-R o por la inmunización activa con los receptores purificados. No obstante, la mayoría de los bebés hijos de madres con miastenia no presenta enfermedad muscular, y es posible que se protejan mediante la producción de anticuerpos dirigidos contra idiotipos sobre los autoanticuerpos maternos. Muchos pacientes con miastenia desarrollan timomas portadores de moléculas que forman reacciones cruzadas con Ach-R, aunque por sus estructuras no pertenecen a esa familia de genes. Es posible que el mimetismo molecular basado en secuencias peptídicas comparables permita la programación de células T autorreactivas que luego generen respuestas anti-Ach-R genuinas. La asociación con el polimorfismo Ach-R sugiere el riesgo de cierta contribución por parte del autoantígeno.

También se pueden producir defectos neuromusculares en ratones inyectados con suero proveniente de pacientes con síndrome de **Lambert-Eaton** que contienen anticuerpos contra los canales del calcio presinápticos. Se identificaron autoanticuerpos contra canales del sodio que reaccionan contra el bacilo *Campylobacter* en el **síndrome de Guillain-Barré**, una polineuritis periférica que se resuelve por sí sola. Algo diferente es la **encefalitis de Rasmussen**, una patología de la infancia con convulsiones focales inexorables, que no responden al tratamiento, e histopatología inflamatoria encefálica; estos pacientes poseen anticuerpos que actúan como agonistas y destruyen neuronas que responden al ácido caínico mediante la estimulación excesiva de receptores de glutamina tipo 3. Cabe preguntarse si se descubrirían fenómenos de este tipo en otros trastornos neurológicos si se ampliaran e intensificaran las investigaciones.

Estómago

La lesión histopatológica subyacente en la **amenia perniciosa** es una gastritis atrófica en la que la invasión mononuclear inflamatoria crónica se asocia con degeneración de las glándulas secretoras e incapacidad para producir ácido gástrico. El desarrollo de aclorhidria casi con seguridad es acelerado por la acción inhibitoria de anticuerpos contra la bomba de protones gástrica, una ATPasa dependiente de H^+-K^+ ubicada en las membranas de los canalículos secretores, y quizá también los receptorese de gastrina.

El concepto de que algunos casos de úlcera gástrica pueden ser consecuencia de la estimulación de secreción gástrica por activación de anticuerpos contra los receptores de histamina es atractivo, pero aún faltan las investigaciones pendientes requeridas para establecer su validez.

Otros receptores celulares

Algunos pacientes con **alergia atópica** poseen anticuerpos bloqueantes séricos contra receptores betaadrenérgicos que pueden representar sólo uno de los numerosos factores diferentes capaces de alterar la sensibilidad basal de los mastocitos y de colocar al paciente en situación de riesgo para el desarrollo de la enfermedad. La contrapartida se revela en la miocardiopatía de la enfermedad de Chagas, cuando los anticuerpos contra estos receptores actúan como agonistas e incrementan la frecuencia cardíaca. Los anticuerpos que bloquean los receptores para insulina son una especie infrecuente que aparece en los pacientes con acantosis nigricans (tipo B) y ataxia telangiectasia asociada con resistencia a insulina.

Otros tejidos

Intestino

Algunos pacientes con **gastritis atrófica autoinmune** diagnosticada por aclorhidria y anticuerpos contra células parietales (véase antes y cuadro 19-2) sólo vagan durante años sin desarrollar la deficiencia de vitamina B_{12} que precipita la **anemia perniciosa**. Es probable que la destrucción autoalérgica esté en gran parte equilibrada por la regeneración de células mucosas, explicación que respondería a la observación de que dosis elevadas de corticoides pueden restablecer la función gástrica en ciertos individuos con anemia perniciosa. No obstante, el equilibrio se pierde cuando el paciente elabora anticuerpos contra factor intrínseco en la luz del tracto gastrointestinal, que neutralizan la pequeña cantidad de factor intrínseco aún disponible y el organismo desarrolla un desequilibrio negativo para B_{12}. Los síntomas de deficiencia de B_{12}, anemia perniciosa y, en ocasiones, degeneración subaguda de la médula aparecen entonces bastante más tarde, cuando se agotan los depósitos hepáticos (fig. 20-2).

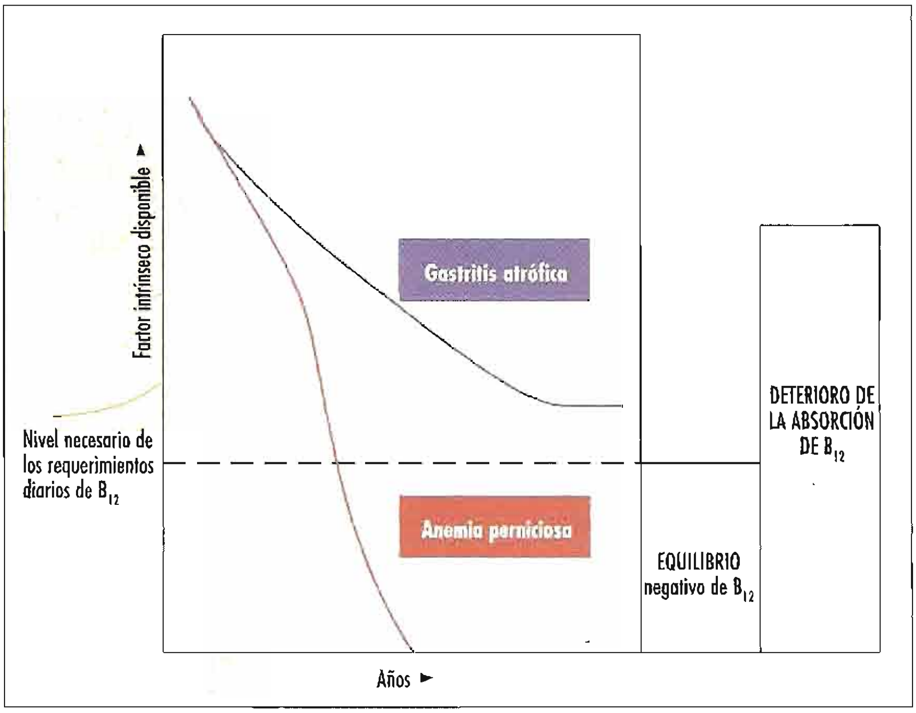


Fig. 20-2. Patogenia de la anemia perniciosa. Los pacientes con gastritis atrófica de larga data, con anticuerpos contra las células parietales, pero no contra factor intrínseco no presentan desequilibrio negativo de B_{12}. Se desarrolla anemia perniciosa cuando se superponen los anticuerpos contra factor intrínseco a los de gastritis atrófica. (Según Doniach D & Roitt IM [1964] *Seminars in Haematology* I, 313.)

La tolerancia adquirida en condiciones normales contra las proteínas de la dieta parece desaparecer en la **enfermedad celíaca**, donde se demuestra sensibilidad de las células T al gluten de trigo en el intestino delgado. Dado que el gluten se puede fijar con firmeza a la proteína de la matriz extracelular, el endomisio, se podría pensar que la captación del complejo por las células B productoras de IgA específicas para el endomisio podría "transportar a cuestas" el gluten hacia el interior de la célula B para su procesamiento y presentación sobre CMH clase II a las células T helper específicas para gluten (véase fig. 19-13). Ahora seguiría la estimulación de la célula B, con secreción de los anticuerpos IgA contra el endomisio exclusivos de los pacientes con enfermedad celíaca. Junto con la mayor expresión de los receptores Fcα en la lámina propia y con la evidencia de la activación del complemento y de los eosinófilos, es concebible que los mecanismos mediados por anticuerpos podrían ser patógenos.

Piel

El reconocimiento de un autoantígeno de 130 kDa sobre las células del epitelio pavimentoso estratificado, que es miembro de la familia de cadherinas de las moléculas de adhesión dependientes de Ca^{2+} favorece la patogenia por anticuerpos del **pénfigo vulgar**. De modo similar, es probable que los anticuerpos contra desmogleína 1 medien la formación de ampollas en la epidermis de los pacientes con **pénfigo foliáceo**.

Espermatozoides

En algunos **varones infértiles**, los anticuerpos aglutinantes inducen la agregación de los espermatozoides e interfieren con la penetración en el moco cervical.

Membrana basal glomerular (m.b.g.)

En la enfermedad renal inmune los modelos experimentales precedieron el hallazgo de lesiones paralelas en seres humanos. La inyección de preparados heterólogos de m.b.g. que forma reacciones cruzadas en coadyuvante completo de Freund produce glomerulonefritis en ovejas y otros animales de experimentación. Los anticuerpos contra m.b.g. se pueden detectar mediante la tinción por inmunofluorescencia de biopsias provenientes de animales nefríticos con anti-IgG. En gran parte, si no en su totalidad, los anticuerpos son extraídos por el riñón in vivo, pero aparecen en el suero en casos de nefrectomía y pueden transferir en forma pasiva la enfermedad a otro animal de la misma especie.

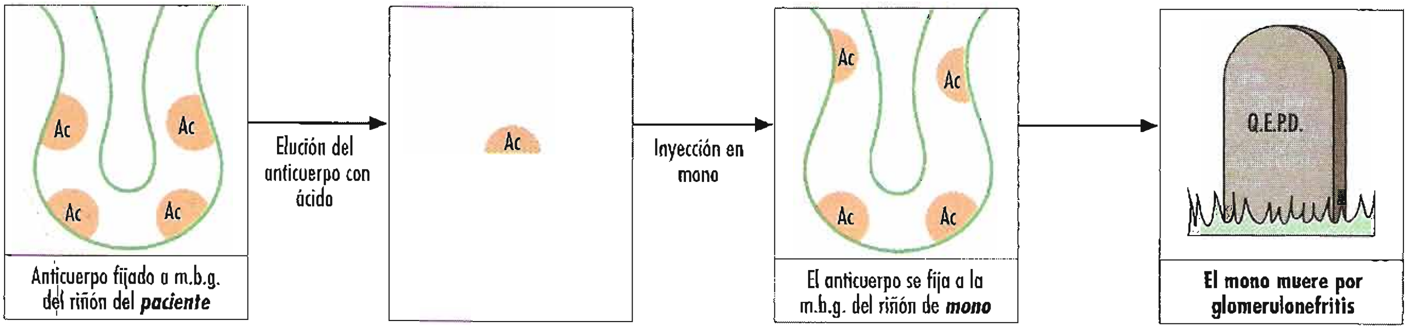

Ac
Ac
Ac
Ac
Anticuerpo fijado a m.b.g. del riñón del *paciente*
Elución del anticuerpo con ácido
Ac
Inyección en mono
Ac
Ac
Ac
Ac
El anticuerpo se fija a la m.b.g. del riñón de *mono*
Q.E.P.D.
El mono muere por glomerulonefritis

Fig. 20-3. Transferencia pasiva de glomerulonefritis a un mono ardilla por inyección de anticuerpos contra la membrana basal glomerular (anti-m.b.g.) aislados por elusión ácida del riñón de un paciente con síndrome de Goodpasture. (Según Lerner RA, Glascock RJ & Dixon FJ [1967] *Journal of Experimental Medicine* **126**, 989.)

Una situación totalmente análoga tiene lugar en seres humanos en ciertos casos de glomerulonefritis, en particular los asociados con hemorragia pulmonar (**síndrome de Goodpasture**). La biopsia renal del paciente presenta depósitos *lineales* de IgG y C3 a lo largo de la membrana basal de los capilares glomerulares (fig. 16-17a). Tras la nefrectomía se pueden detectar anticuerpos séricos contra m.b.g. Lerner y col. eluyeron el anticuerpo contra m.b.g. de un riñón enfermo y lo inyectaron en un mono ardilla. El anticuerpo se fijó con rapidez a la m.b.g. del animal receptor y produjo una nefritis fatal (fig. 20-3). Es difícil no aceptar la conclusión de que la lesión en el ser humano es resultado directo del ataque de la m.b.g. por estos anticuerpos fijadores de complemento. Los cambios pulmonares en el síndrome de Goodpasture se pueden atribuir a reacciones cruzadas con algunos de los anticuerpos contra la m.b.g.

Es curioso que el cloruro de mercurio produce glomerulonefritis anti-m.b.g. en ratas Brown Norway y a medida que continúa la enfermedad hay un surgimiento de los supresores de antiidiotipo. Las cepas no susceptibles producen supresores con rapidez.

Corazón

El lupus eritematoso neonatal es la causa más común de **bloqueo cardíaco completo congénito** permanente. Casi todos los casos se asociaron con elevados títulos maternos de anti-La/SS-B o anti-Ro/SS-A. El corazón de la madre no se ve afectado. La observación clave era que el anti-Ro se fija al tejido cardíaco neonatal en lugar del adulto y altera el potencial de acción transmembrana al inhibir la repolarización (fig. 20-4). La IgG anti-Ro llega a la circulación fetal por pasaje transplacentario, pero aunque los corazones materno y fetal están expuestos al autoanticuerpo, sólo el último se ve afectado. El anti-La/SS-A también se fija a los corazones fetales afectados al reaccionar con la laminina de la membrana basal.

EFECTOS PATOGÉNICOS DE LOS COMPLEJOS CON AUTOANTÍGENOS

Lupus eritematoso sistémico (LES)

Cuando se forman autoanticuerpos contra los componentes solubles a los que tienen acceso constante se pueden generar complejos capaces de originar lesiones similares a las que aparecen en la enfermedad del suero, en especial cuando los defectos de los componentes clásicos tempranos del complemento impiden la depuración efectiva. En consecuencia, si bien la deficiencia homocigótica del complemento es una causa infrecuente de LES (véase fig. 16-24), el trastorno arquetípico de complejos inmunes, representa el más poderoso genotipo de susceptibilidad a la enfermedad identificado hasta el presente; más del 80% de los casos con deficiencia homocigótica de C1q y C4 sufren LES. Hasta la mitad de los pacientes portan autoanticuerpos contra la porción de colágeno de C1q, pero a decir verdad hay una rica variedad de distintos autoantígenos en el lupus (véase cuadro 19-2), algunos de ellos constituyentes del nucleosoma (véase fig. 19-1g), donde el más patognomónico es el **DNA bicatenario** (dsDNA). El anti-dsDNA aparece enriquecido en

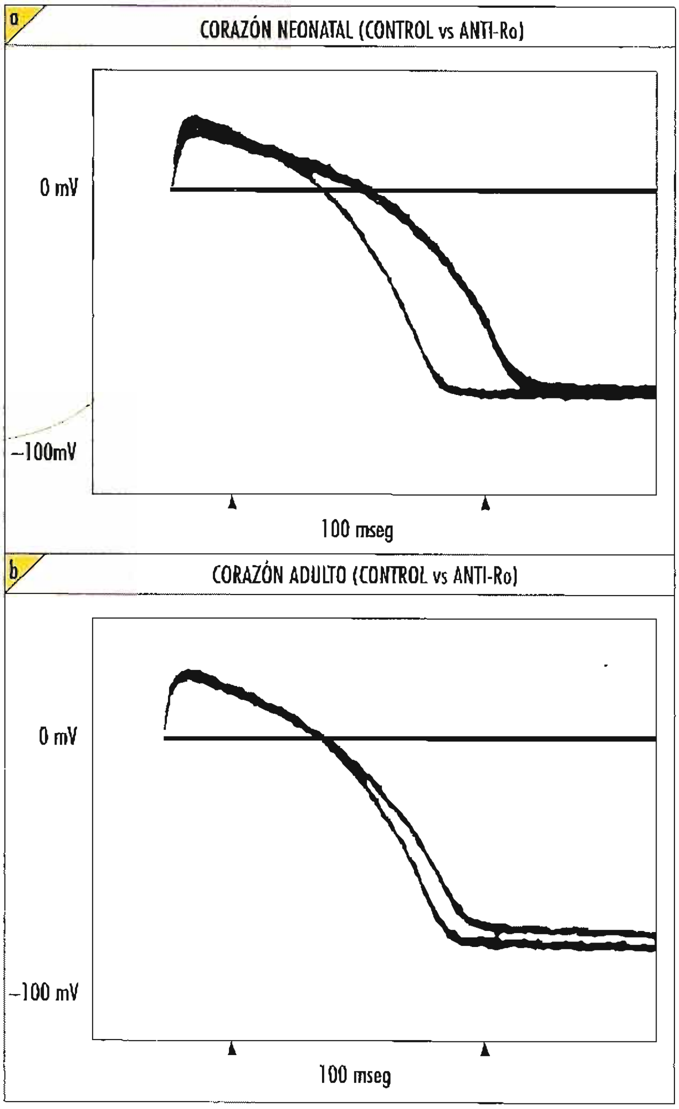


Fig. 20-4. El anti-Ro afecta la conducción del corazón neonatal, pero no del adulto. a) Potencial de acción de la fibra cardíaca de ratón NZW recién nacido antes y 20 minutos después de la superfusión con suero que contiene anti-Ro/SS-A; la fase de repolarización del potencial de acción está reducida en un 30%. b) El mismo experimento con una fibra cardíaca de adulto, que muestra una reducción de sólo el 5%. (Reproducido de Alexander E. et al. [1992] *Arthritis and Rheumatism* **35**, 176.) Se puede eluir el anti-La/SS-B del tejido cardíaco fetal de lactantes con bloqueo cardíaco congénito. Reacciona con la laminina de la membrana basal fetal, pero no con la adulta. Los autoanticuerpos contra la proteína endógena de cubierta retroviral (ERV-3) aparecen durante el embarazo y desaparecen luego del parto, pero persisten en mujeres con enfermedades autoinmunes; los niveles más elevados se detectan en mujeres con antecedentes de hijos con bloqueo cardíaco congénito.

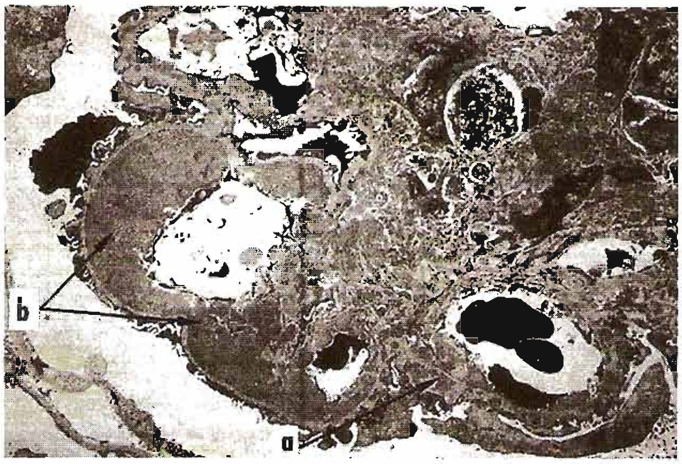


Fig. 20-5. Biopsia renal de un paciente con LES, con glomerulonefritis severa por inmunocomplejos y proteinuria. La microfotografía electrónica muestra engrosamiento irregular de las paredes capilares glomerulares debido a complejos subepiteliales **a)** y subendoteliales **b)**. La región mesangial contiene abundantes complejos (posiblemente fagocitados). (Cortesía del doctor A Leatham.)

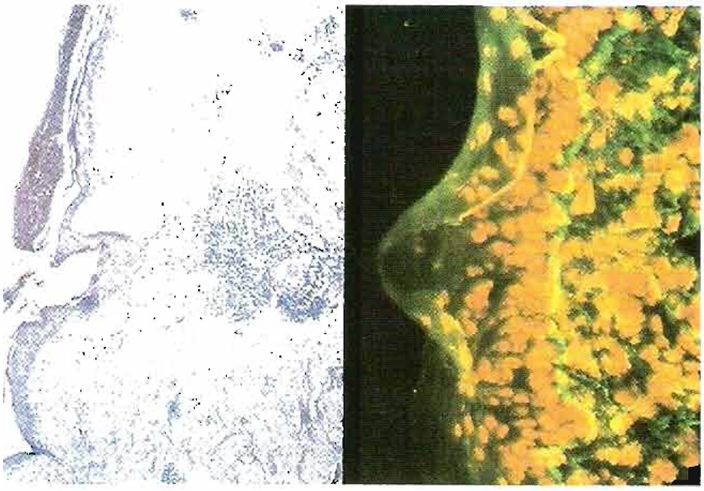


Fig. 20-6. La "banda lúpica" en LES. *Izquierda*: corte de piel que muestra engrosamiento ligero de la unión dermoepidérmica con células inflamatorias subyacentes dispersas y un centro importante de inflamación en las capas más profundas. Hematoxilina-eosina con aumento escaso. *Derecha*: tinción fluorescente verde de una biopsia de piel con más incremento, que muestra un depósito de complejos que contiene IgG (anti-C3 genera el mismo cuadro) en la membrana basal de la unión dermoepidérmica. (Cedido gentilmente por el profesor D. Isenberg.)

las crioglobulinas y los eluidos ácidos del tejido renal de pacientes con nefritis lúpica en los que se puede identificar, quizás en los complejos que contienen complemento, mediante la tinción por inmunofluorescencia de biopsias renales provenientes de pacientes con evidencias de disfunción renal. El patrón de tinción con anti-IgG o anti-C3 fluorescentes es moteado o "grumoso", como se describió en un momento (fig. 16-17b), en marcado contraste con el patrón lineal generado por los anticuerpos contra m.b.g. en el síndrome de Goodpasture (fig. 16-17a; pág. 383). Los complejos crecen en tamaño hasta

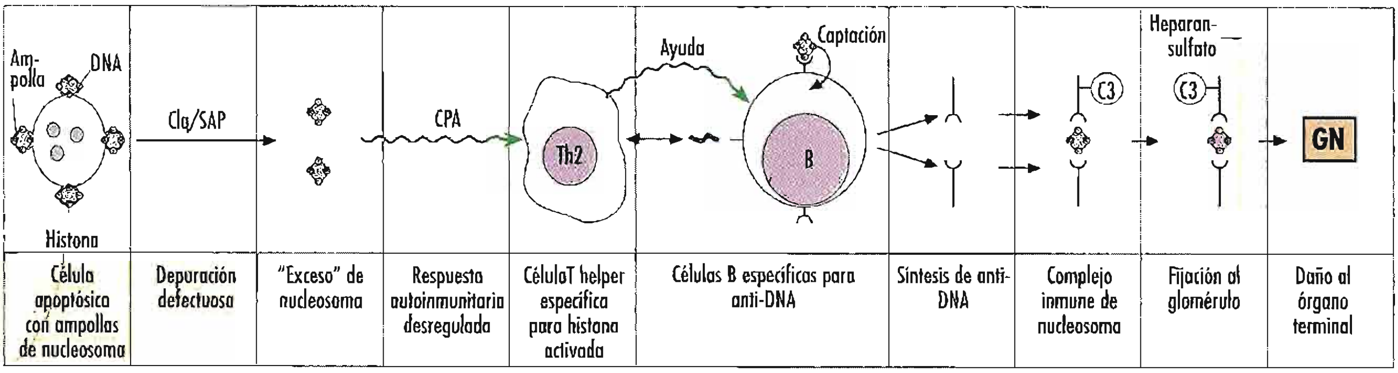
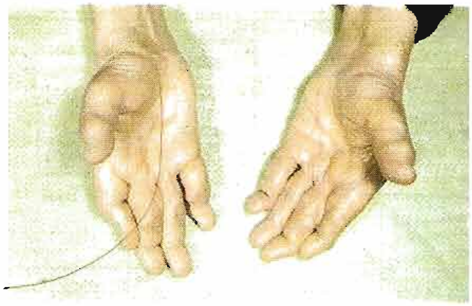

Am-pollo
DNA
Histona
Clq/SAP
CPA
Th2
Ayuda
Captación
B
C3
Heparan-sulfato
C3
GN
Célula apoptósica con ampollas de nucleosoma
Depuración defectuosa
"Exceso" de nucleosoma
Respuesta autoinmunitaria desregulada
CélulaT helper específica para histona activada
Células B específicas para anti-DNA
Síntesis de anti-DNA
Complejo inmune de nucleosoma
Fijación al glomérulo
Daño al órgano terminal

Fig. 20-7. Posible patogenia que conduce al daño de órgano terminal en LES. Los nucleosomas derivados de células apoptósicas pueden estimular la producción de anti-DNA por medio de un mecanismo de "transporte a cuestas" en huéspedes susceptibles. Los complejos obtenidos se fijan al heparansulfato de la membrana basal glomerular, donde inducen la glomerulonefritis. Son bien conocidas la elevada incidencia de lupus en personas deficientes en C1q y la susceptibilidad de los pacientes a erupciones cutáneas ante la exposición a los rayos UV de la luz solar, que induce la apoptosis de las células de la piel. SAP, precursor amiloide sérico; CPA, célula presentadora de antígeno; GN, glomerulonefritis.

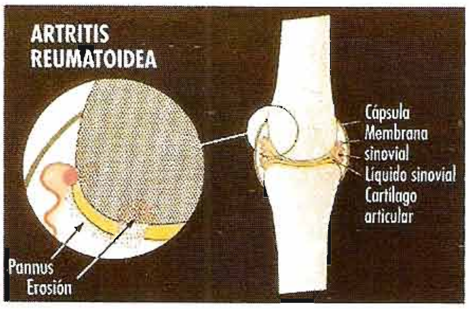
transformarse en grandes agregados visibles por microscopio electrónico como cúmulos amorfos a ambos lados de la m.b.g. (fig. 20-5). Durante la fase activa de la enfermedad disminuyen los niveles de complemento sérico a medida que sus componentes se ven afectados por los agregados inmunes en el riñón y la circulación. El depósito de los complejos se disemina, como su nombre lo indica, y si bien el 40% de los pacientes *por último* desarrolla lesiones renales, las cifras correspondientes al compromiso orgánico son del 98% para piel (fig. 20-6), del 98% para articulaciones/músculo, del 64% para pulmón, del 60% para sangre, del 60% para el encéfalo y del 20% para el corazón.

La producción espontánea de anti-dsDNA también es un rasgo dominante de los modelos animales de LES, los ratones NZB×W, MRL/*lpr*, BXSB y por noqueo del gen único *p21*, lo que implica la aparición de enfermedad fatal por complejos inmunes. A medida que progresa la afección se generan cantidades crecientes de anti-DNA catiónico con argininas ubicadas estratégicamente en sitios de significación paratópica. Las evidencias de gran afinidad y la clase IgG de estos anticuerpos, así como el alivio de síntomas y la disminución de los complejos inmunes glomerulares renales tras el tratamiento de ratones NZB×W con DNAsa I o anti-CD4 son pruebas convincentes de que se trata de una patología mediada por complejos, dirigida por el antígeno y dependiente de células T. Pero dado que el DNA no es un antígeno dependiente del timo y los autoanticuerpos de LES incluyen un cúmulo dirigido contra los antígenos vinculados físicamente que constituyen el nucleosoma, se podría concebir un mecanismo de "transporte a cuestas", similar al tipo presentado en la figura 19-13. Si se consideran las ampollas de los nucleosomas que aparecen sobre la superficie de las células apoptósicas, y que al inicio clínico de LES lo precede una expansión espontánea de las poblaciones de células T específicas para nucleosoma, se puede imaginar un escenario similar que comprende la internalización del material de nucleosona capturado en los receptores de superficie de células B anti-DNA, la presentación de complejos de péptido procesado de histona-CMH clase II a las células T helper específicas para histona, y la proliferación clonal de células formadoras de anticuerpo anti-DNA (fig. 20-7). Se demuestra la presencia de complejos de anti-DNA con material de nucleosona circulante, que se unen a través de la histona (y quizás anti-DNA catiónico) al heparansulfato extracelular, donde se pueden acumular y dañar blancos de órgano terminal, como el glomérulo renal.

Hay otra vía de "transporte a cuestas". En el capítulo anterior se analizó la posible intervención de idiotipos, al referirse a experimentos en los que la inmunización de ratones con anticuerpos antinucleares monoclonales humanos produjo nuevos anticuerpos de similares idiotipo y especificidad (en términos bíblicos, "un anticuerpo engendra un anticuerpo"). Supóngase que una infección bacteriana fuerza la activación de una red importante de idiotipos públicos (véase fig. 19-14); por ejemplo, el idiotipo 16/6 para un anti-DNA humano que circula como autoanticuerpo natural es también portado sobre un anticuerpo de línea germinal contra *Klebsiella*. Una célula T helper que reconoce el Id 16/6 procesa-



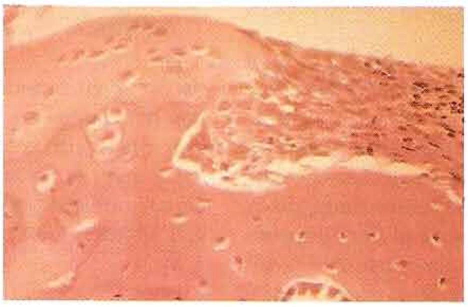
a


ARTRITIS REUMATOIDEA
Cápsula
Membrana sinovial
Líquido sinovial
Cartílago articular
Pannus
Erosión

b

c

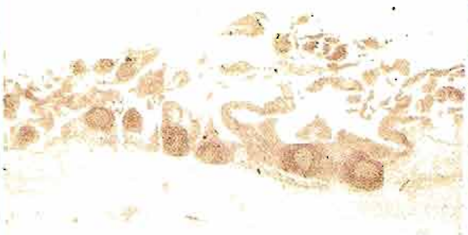
d



e

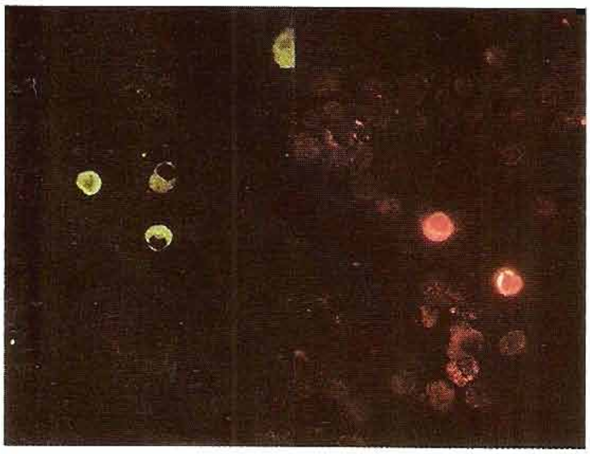
f

g

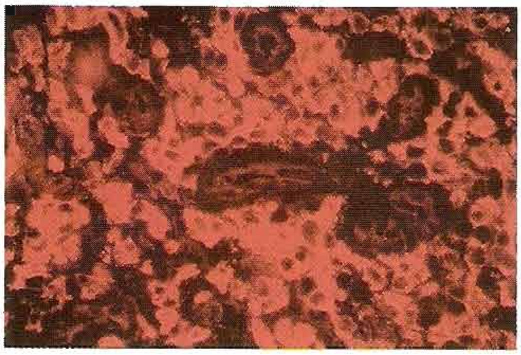


h

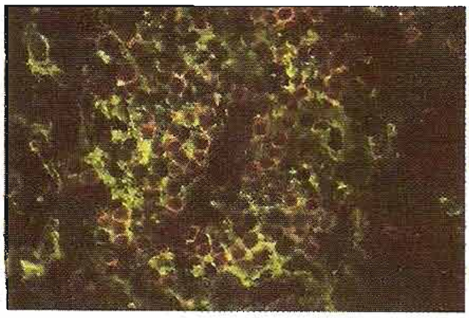
i



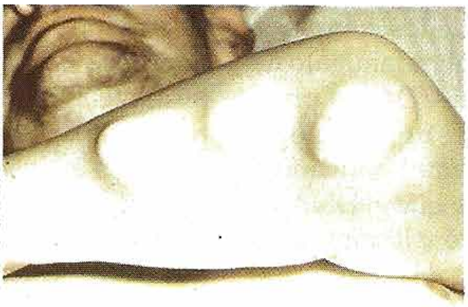
j



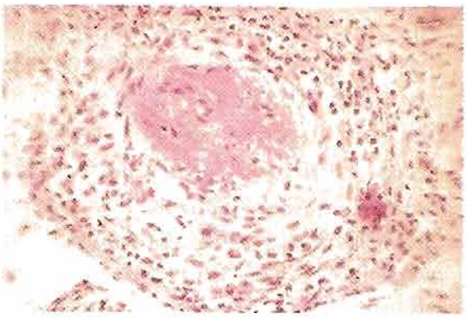
k



l



m



n

do podría estimular las células B anti-DNA que capturaron un complejo de DNA con el anticuerpo natural positivo para Id (véase fig. 19-13 y pág. 234).

Artritis reumatoidea

Evidencia morfológica de actividad inmune

En esencia, los cambios conjuntos de AR son producidos por el **crecimiento maligno de las células sinoviales** como un pannus superpuesto que destruye el cartílago y el hueso (fig. 20-8a-f). La membrana sinovial que rodea y mantiene el espacio articular se torna intensamente celular como consecuencia de una hiperactividad inmunitaria considerable, como lo evidencian las grandes cantidades de células T, en su mayor parte CD4, en diversos estadios de activación, por lo general asociados con células dendríticas y macrófagos (fig. 20-8l); a menudo se observan cúmulos de células plasmáticas, y a veces incluso se encuentran folículos secundarios con centros germinativos, como si la membrana sinovial se hubiera transformado en un ganglio linfático activo (fig. 20-8g-i). De hecho, se estimó que la síntesis de inmunoglobulinas por el tejido sinovial es similar en cantidad al de un ganglio linfático estimulado. Hay amplia expresión de HLA-DR de superficie (clase II); las células T y B, las células dendríticas y las de revestimiento sinovial y los macrófagos son todas positivas, lo que indica una acción bastante generalizada (fig. 20-8k). Se postula que esta a reactividad inmunitaria poderosa proporciona un estímulo intenso a las células de revestimiento sinovial, que sufren una transformación drástica hacia el pannus invasivo que causa erosión articular debido a la liberación de mediadores destructivos.

Autosensibilización contra IgG y formación de complejos inmunes

Los autoanticuerpos contra la región Fc de la IgG (véase fig. 20-10a), denominados **antiglobulinas** o **factores reumatoideos**, son la marca característica de la enfermedad y se observan en casi todos los pacientes con AR. La mayoría posee antiglobulinas IgM que reaccionan en las pruebas clásicas de aglutinación de látex y de células de carnero (cuadro 19-2; nota 7), y se demostró que tanto estos pacientes como los "seronegativos" que no reaccionan con estas pruebas tienen niveles elevados de **antiglobulinas contra IgG** detectables mediante inmunoensayos de fase sólida (véase pág. 492; fig. 20-9).

En consecuencia, si la autosensibilización contra IgG es una característica casi universal de la patología, cabría esperar que las células plasmáticas de la membrana sinovial sinteticen antiglobulinas. De hecho, el 10-20% se une a la IgG marcada con fluoresceína, ya sea bajo la forma de material agregado por calor (fig. 20-8j) o de complejos inmunes (el factor reumatoideo es un anticuerpo de baja afinidad y sólo se observa una buena unión cuando se usa IgG multivalente como antígeno). Se debe considerar una característica extra-

Fig. 20-8. (*Página opuesta*) **Artritis reumatoidea (AR). a)** Manos de un paciente con AR crónica que presenta las deformidades clásicas en cuello de cisne. **b)** Diagrama de una articulación diartrósica que muestra erosiones óseas y cartilaginosas por debajo del pannus derivado de la membrana sinovial. **c)** Articulación interfalángica proximal que muestra erosión ósea marcada y marginal del cartílago. **d)** Pannus temprano de tejido de granulación que crece sobre la rótula. **e)** Histología del pannus que muestra erosión neta del hueso y el cartílago en el margen celular. **f)** Histología del pannus teñido para esterasa inespecífica de macrófagos; nótense las largas prolongaciones dendríticas teñidas. **g)** Células de inflamación crónica en las capas más profundas de la membrana sinovial en AR. **h)** Membrana sinovial hipervellosa que revela folículos secundarios bien formados con centros germinativos (poco frecuentes). **i)** Visión a gran aumento de una zona de la membrana sinovial enferma que muestra grupos de células plasmáticas clásicas. **j)** Células plasmáticas de tejido sinovial de un paciente teñido al mismo tiempo para IgM (con $F(ab')_2$ anti-μ marcada con fluoresceína) y factor reumatoideo (con Fcγ agregado marcado con rodamina). Dos de las cuatro células plasmáticas positivas para IgM parecen sintetizar factores reumatoideos. **k)** Membrana sinovial rematoidea que muestra gran cantidad de células teñidas para anti-HLA-DR (anticlase II). **l)** Membrana sinovial reumatoidea que muestra células accesorias positivas para clase II (verde) en contacto íntimo con células T CD4$^+$ (naranja). **m)** Grandes nódulos reumatoideos en el antebrazo. **n)** Aspecto granulomatoso del nódulo reumatoideo, con una zona necrótica central rodeada por células epitelioides, macrófagos y linfocitos dispersos. A menudo se observan células plasmáticas que elaboran factor reumatoideo, y es posible que las lesiones representen una respuesta a la formación de complejos anti-Ig insolubles. [Gentilmente cedidos por a) el doctor D. Isenberg; **c**), **d**), **e**), **g**), **h**) e **i**) el doctor L.E. Glynn; **f**) el Profesor J. Edwards; **j**) los profesores P. Youinou y P.Lydyard; y **k**) y **l**) por el profesor G. Janossy.]

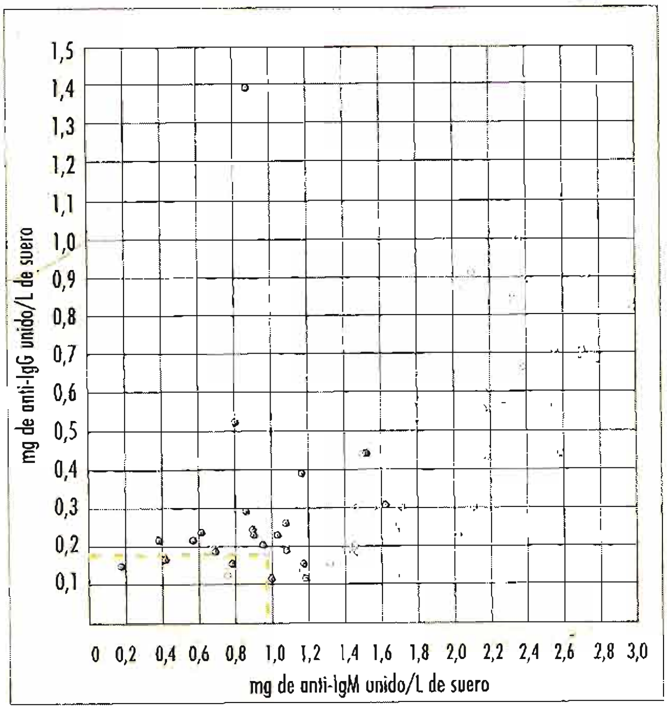


Fig. 20-9. Antiglobulinas contra IgM e IgG determinadas mediante radioensayos en tubo en pacientes con artritis reumatoidea seropositivas (círculos abiertos) y seronegativos (círculos oscuros). Las líneas de puntos indican que los límites de confianza del 95% (media ± 2 DS) del grupo normal. (Según Nineham L., Hay F.C. & Roitt I.M. [1976] *Journal of Clinical Pathology* **29**, 1121.)

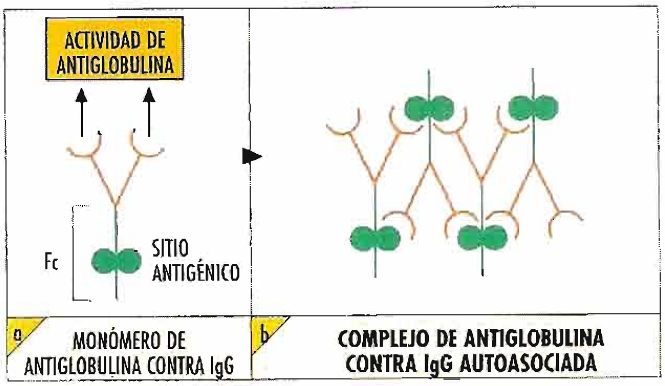

ACTIVIDAD DE ANTIGLOBULINA
Fc
SITIO ANTIGÉNICO
a
MONÓMERO DE ANTIGLOBULINA CONTRA IgG
b
COMPLEJO DE ANTIGLOBULINA CONTRA IgG AUTOASOCIADA

Fig. 20-10. Complejos autoasociados de antiglobulinas contra IgG. Si bien la unión tiene afinidad relativamente baja, la fuerza aumenta por el "efecto de bonificación" de la unión mutua, y además, estos complejos en la articulación pueden estabilizarse por la antiglobulina contra IgM y C1q con sitios de unión polivalentes para IgG. La degradación de las regiones Fc por la pepsina libera los sitios de unión "ocultos" que intervienen en la autoasociación. El análisis por rayos X de un complejo de Fc de la IgG con dos fragmentos Fab aislados de un factor reumatoideo contra IgM monoclonal derivado de un paciente con AR mostró la fijación de los parátopos Fab a través de los residuos externos, y no los internos, del sitio de combinación del antígeno convencional de los CDR; esto sugiere una forma nueva de reacción cruzada, al permitir la unción simultánea a otro antígeno. (Sutton B. et al. [2000] *Immunology Today* **21**, 177.)

ña y singular de las antiglobulinas contra IgG; dado que son antígeno y anticuerpo al mismo tiempo tienen capacidad de **autoasociación** (fig. 20-10b) y esto oculta la mayoría de las valencias libres de antiglobulina. Munthe y Natvig comprendieron con ingenio que la destrucción de las regiones Fc por la pepsina podría liberar estos sitios de fijación ocultos, y así observaron que un porcentaje mayor de células plasmáticas de la membrana sinovial presentaba especificidad anti-IgG luego del tratamiento con esta enzima.

En general se pueden detectar los agregados de IgG, supuestamente producidos por estas células plasmáticas, en los tejidos sinoviales y en el líquido articular, donde dan origen a reacciones inflamatorias agudas típicas con los exudados líquidos. El análisis muestra que presentan casi con exclusividad inmunoglobulinas y complemento, mientras que una proporción importante de la IgG se encuentra como antiglobulina autoasociada, como se muestra por la fijación a un inmunoabsorbente Fcγ después del tratamiento con pepsina.

Patrones anormales de glucosilación de IgG

Los dos dominios C_H2 de la región Fc se mantienen separados (véase pág. 53) por dos azúcares ligados por asparagina de la estructura general que se muestra en la figura 20-11a, y la galactosa terminal yace en un bolsillo especial "similar a lectina" (fig. 20-11b). Algunas cadenas terminan en *N*-acetilglucosamina y carecen de los azúcares galactosa terminales. Es extraordinario que el porcentaje de azúcares que carecen por completo de galactosa en la IgG de pacientes jóvenes y adultos con AR es casi siempre superior a los controles, y alcanzan valores de hasta el 60%. Esta glucosilación anormal podría tener cuatro consecuencias posibles:

1. El Fc puede tener mayor autoantigenicidad.

2. Los complejos IgG autoasociados (fig. 20-10b) se mantendrían unidos por enlaces más firmes si la galactosa terminal en el azúcar Fab de una IgG coin-

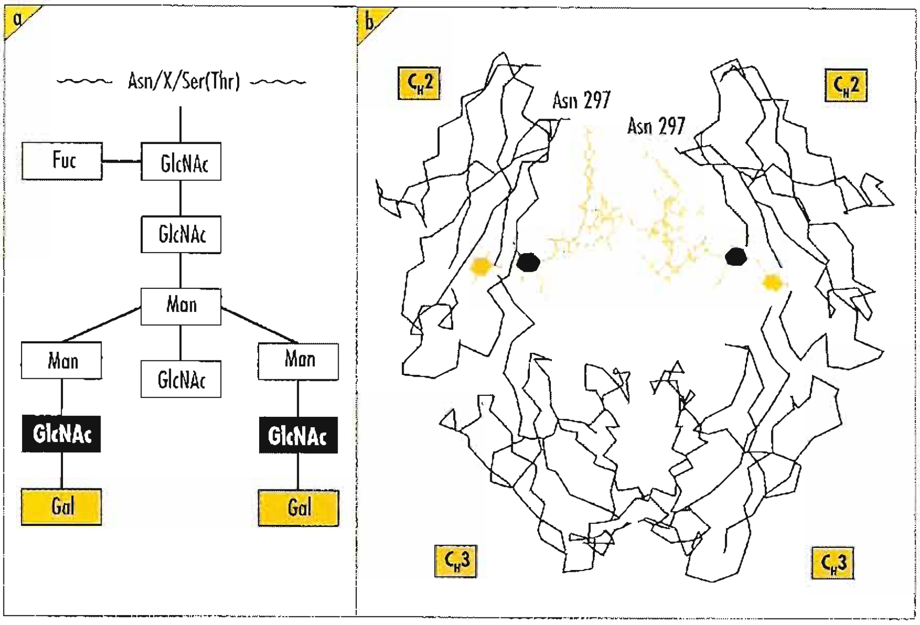


Fig. 20-11. Los azúcares Fc y su papel en la formación de puentes entre los dos dominios C_H2 de la IgG. a) Estructura típica de cada azúcar unido a N. Algunas cadenas carecen de una galactosa (G1) terminal, o de ambas (agalacto-IgG; G0). **b)** Estructura de las regiones C_H2 y de la asociación entre la galactosa terminal en el brazo 1,6 y la superficie proteica. Los brazos 1,3, uno de los cuales carece de galactosa, forman un puente entre los dos dominios. GlcNAc, *N*-acetilglucosamina; Man, manosa; Gal, galactosa; Fuc, fucosa.

cide con el sitio de lectina en el C_H2 que queda vacante debido a la falta de galactosa en el azúcar Fc.

3. Puede estar aumentada la interacción con los mediadores inflamatorios (fig. 20-12). La exposición de *N*-acetilglucosamina en la glucoforma agalacto-IgG permite el reconocimiento de complejos inmunes mediante una proteína fijadora de manosa, con activación de la vía clásica del complemento (véase pág. 17) y la estimulación de macrófagos por medio de la unión con TNF. Esta potencia inflamatoria aumentada se observa con claridad en la superioridad del agalacto-anticolágeno sobre su contrapartida glucosilada normalmente en la producción de artritis inducida por colágeno por sinergia con la inmunidad celular (véase fig. 20-13).

4. La interacción con los receptores Fcγ sobre ciertas células efectoras puede estar muy modificada, por ejemplo, por defectos en el control por retroalimentación de la producción de autoanticuerpos.

Está bien establecido que las mujeres embarazadas con AR muestran remisión de su enfermedad a medida que se acercan a la fecha de término, pero una exacerbación posparto; cuando la artritis remite descienden los valores de agalacto-IgG, pero a medida que la enfermedad empeora tras el parto, la agalacto-IgG vuelve a adoptar valores anormales, lo que sugiere un compromiso íntimo con el proceso patológico. Estudios en el largo plazo en comunidades cerradas de los indios Pima, que presentan una incidencia excepcionalmente elevada de AR, mostraron que los cambios en la galactosa de IgG proporcionan un marcador temprano de enfermedad clínica futura y se sabe que puede tener **valor pronóstico** en pacientes con AR temprana.

Producción de daño tisular

Como se vio en el epígrafe de la figura 20-10, se pueden estabilizar los complejos mediante la fijación de moléculas de Fcγ multivalente, factor reumatoideo IgM y C1q, y cuando aparecen en el espacio articular pueden iniciar una reacción de Arthus que lleva al ingreso de polimorfonucleares, con los que reaccionan para liberar *i*ntermediarios *r*eactivos de *o*xígeno (IRO) y enzimas lisosómicas. Éstas incluyen proteinasas neutras y colagenasa capaces de **dañar el cartílago articular** al degradar proteoglucanos y fibrillas de colágeno. Se produce mayor daño si los complejos se adhieren al cartílago, dado que el polimorfonuclear se une a ellos, pero es incapaz de internalizarlos ("fagocitosis frustada"); como consecuencia se liberan las hidrolasas lisosómicas al espacio extracelular entre la célula y el cartílago, donde están protegidas de inhibidores de enzimas como α_2-macroglobulina. Ya se llamó la atención sobre la mayor potencia inflamatoria de los complejos que contienen agalacto-IgG.

Los agregados también pueden estimular las células similares a macrófagos del revestimiento sinovial, ya sea en forma directa, a través de los receptores de superficie, o indirecta, por fagocitosis y resistencia a la digestión intracelular. En este momento falta reconocer que la liberación de citocinas co-

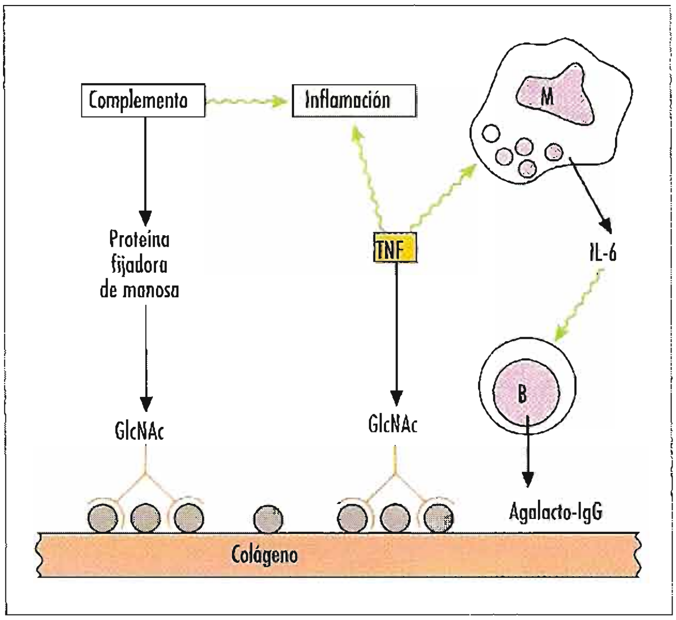


Fig. 20-12. Incentivación de la inflamación por complejos que contienen agalacto-IgG. La proteína fijadora de manosa se combina con la *N*-acetilglucosamina (GlcNAc) expuesta y a través de MASP (proteasa de serina asociada a proteína fijadora de manosa) (véase pág. 17) activa la vía clásica del complemento C2. TNF es una lectina que también se fija a GlcNAc, por lo que estimula los macrófagos en la superficie del complejo. La IL-6 liberada estimula aun más la síntesis de agalacto-IgG por las células B.

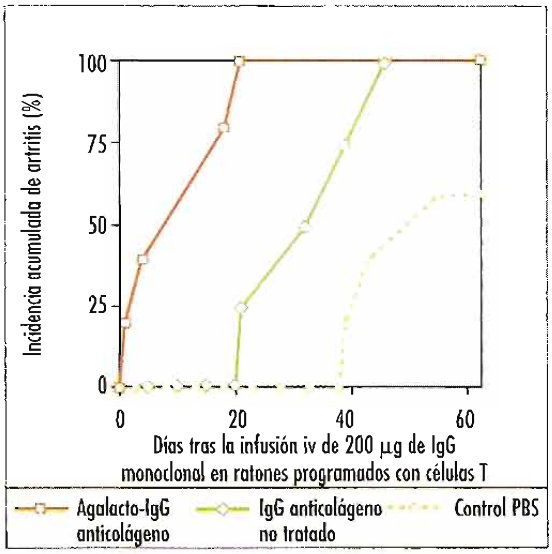


Fig. 20-13. Inducción de artritis crónica por transferencia pasiva de agalacto-IgG. Dos inyecciones de colágeno tipo II desnaturalizado por calor en CFA (coadyuvante completo de Freund) inducen sensibilidad retrasada, pero no anticuerpo ni artritis. Después, la inyección iv de IgG monoclonal murina anticolágeno nativo produjo artritis moderada que aparece después de 20 días, mientras que la agalacto-IgG obtenida por tratamiento de la IgG con β-galactosidasa produce muy rápidamente artritis más severa. PBS, solución fisiológica con buffer de fosfato. (Según Rademacher T.W., Williams P.J. & Dwek R.A. [1994] *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 91, 6123, con autorización de la National Academy of Sciences, Washington DC.)

mo TNF y GM-CSF por las células T proporciona mayor estimulación de los macrófagos.

Las células sinoviales activadas crecen como un pannus maligno (cubierta) sobre el cartílago (fig. 20-8d), y en el margen de este tejido de granulación que avanza se puede observar la degradación (fig. 20-8e), casi con certeza como consecuencia de la liberación de enzimas, IRO y en especial de IL-1, IL-6 y TNF. Los macrófagos activados también secretan activador de plasminógeno, y la plasmina así formada activa una colagenasa latente elaborada por las células sinoviales. Puede tener lugar la sensibilización al colágeno degradado en parte, lo que podría inducir una amplificación posterior de la lesión. Los productos de secreción del macrófago estimulado pueden activar los condrocitos, para exacerbar la **degradación del cartílago**, y los osteoclastos para causar **resorción ósea**, que es una complicación ulterior de la enfermedad grave (fig. 20-8c). Los nódulos subcutáneos son granulomas (figs. 20-8m y n) posiblemente formados por la producción local de antiglobulinas autoasociadoras insolubilizadas.

La contribución de estos complejos inmunes con la patogenia de la AR se incluye en el cuadro general presentado den la figura 20-14, donde se destaca la necesidad de no pasar por alto un posible papel de las células T, que se analizará en la sección siguiente.

LA HIPERSENSIBILIDAD MEDIADA POR CÉLULAS T COMO FACTOR PATÓGENO EN LA ENFERMEDAD AUTOINMUNE

Otra vez artritis reumatoidea

La membrana sinovial con inflamación crónica está densamente ocupado por células T activadas, y se destaca su papel crítico en el proceso patológico por los efectos beneficiosos de los tratamientos con ciclosporina y anti-CD4, además del mayor riesgo de enfermedad asociado con las secuencias del "epítopo compartido" Q(R)K(R)RAA de los resi-

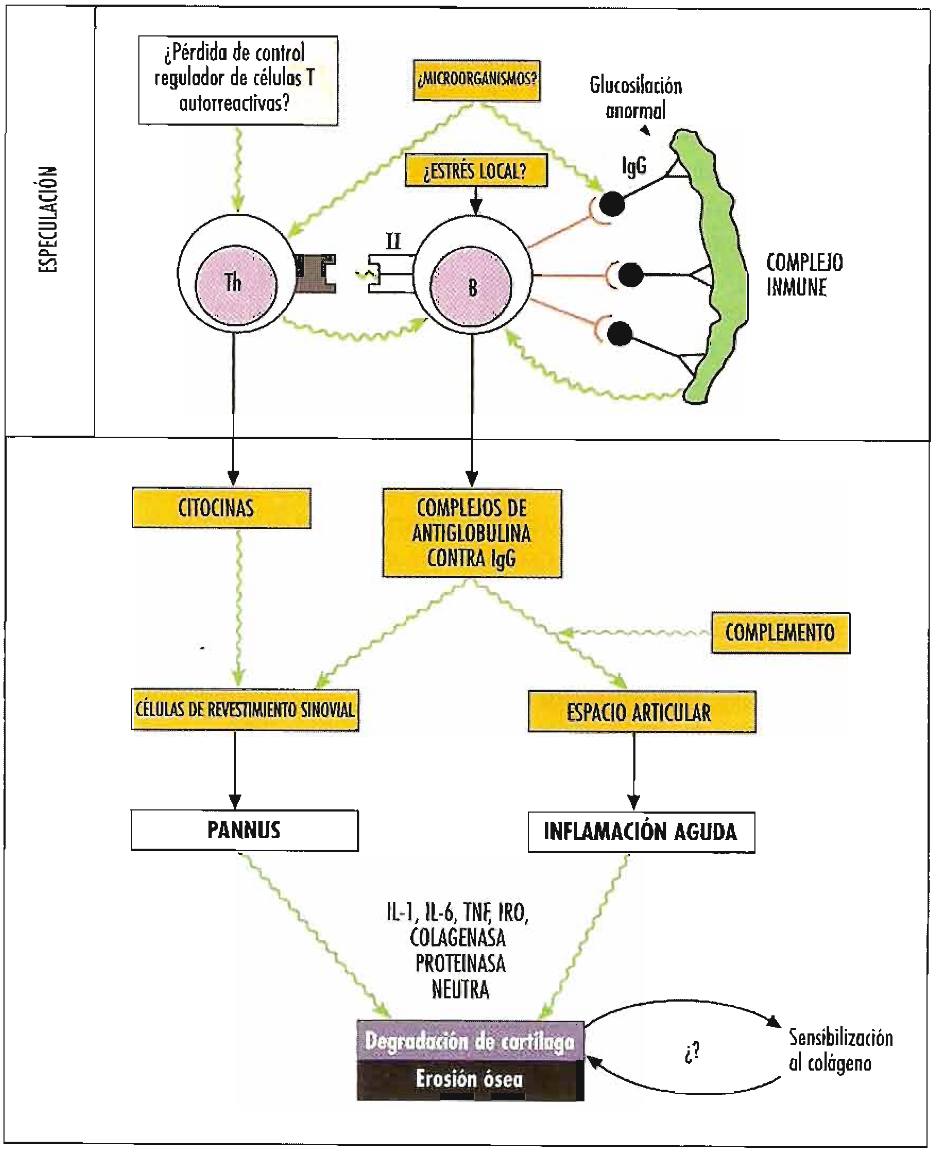

ESPECULACIÓN
¿Pérdida de control regulador de células T autorreactivas?
¿MICROORGANISMOS?
Glucosilación anormal
¿ESTRÉS LOCAL?
IgG
II
Th
B
COMPLEJO INMUNE
CITOCINAS
COMPLEJOS DE ANTIGLOBULINA CONTRA IgG
COMPLEMENTO
CÉLULAS DE REVESTIMIENTO SINOVIAL
ESPACIO ARTICULAR
PANNUS
INFLAMACIÓN AGUDA
IL-1, IL-6, TNF, IRO, COLAGENASA PROTEINASA NEUTRA
Degradación de cartílago
Erosión ósea
¿?
Sensibilización al colágeno

Fig. 20-14. **Inmunopatogenia de la artritis reumatoidea y teoría de inducción de la autoinmunidad.** El control defectuoso de la regulación hipofisario-suprarrenal sobre la inmunidad celular en estos pacientes se describió en el capítulo 19. Se desconoce la identidad del péptido o de los péptidos asociados con la molécula clase II. Hay numerosas oportunidades de que se formen reacciones cruzadas entre el "epítopo compartido" DRβ y diversas proteínas del choque térmico microbianas. Se informó que las células T del líquido sinovial de pacientes con artritis reumatoidea juvenil responden con intensidad a la proteína del choque térmico humana 60, a diferencia de las de los pacientes adultos con artritis reumatoidea. Datos recientes (Matsumoto et al. [1999] *Science* **286**, 1732) concuerdan con el punto de vista de que debe existir alguna característica de la articulación que la torne en particular sensible a las respuestas inmunitarias, en especial quizás a los complejos inmunes, referidas a antígenos ubicuos.

duos 70-74 en la cadena DRβ de DR1 y ciertos alelos DR4 (véase cuadro 17-2). Los niveles elevados de IL-15 dentro de la membrana sinovial pueden reclutar y activar las células T, cuya secreción de citocinas y capacidad para inducir la síntesis por macrófagos de TNF y más IL-15 induce, la formación de gran cantidad de pannus, con la consecuente erosión de cartílago y hueso (fig. 20-14). Los condrocitos también pueden ser blancos de la enfermedad.

Al igual que en LES, aún se desconoce la especificidad antigénica de estas células T. Una clave alentadora proviene del descubrimiento de que la secuencia del epítopo compartido QKRAA, que yace dentro de una región polimorfa de subtipos HLA-DR4/1, también se encuentra en las proteínas del choque térmico dnaJ de *E. coli*, *Lactobacillus lactis* y *Brucella ovis*, además de la proteína gp110 de virus de Epstein-Barr. Esto ya brinda una oportunidad para la programación de células T con especificidad autorreactiva para un péptido procesado que contiene QKRAA y es presentado por otras molécula HLA, como ya se analizó (pág. 471). La cuestión se profundiza al descubrir que QKRAA se fija a una segunda proteína del choque térmico *E. coli* dnaK, y que el HLA-DR que contiene la secuencia QKRAA se une al análogo *propio* de dnaK, a saber hsp73, que tiene por blanco proteínas seleccionadas para ser procesadas por los lisosomas. Aún resta resolver el significado de todo esto, pero otra vez cabe destacar la intervención de la familia hsp. Las sospechas sobre enfrentamientos microbianos previos se deben al descubrimiento a través de amplificación por PCR de secuencias de nucleótidos característicos de *Mycoplasma fermentans, Chlamydia* y virus de Epstein-Barr en una proporción importante de tejidos sinoviales extraídos de pacientes con AR. Se esperan con interés estudios ulteriores sobre la ubicación intracelular, el estado molecular y la posible expresión de este material.

Los antecedentes antigénicos de la **artritis reactiva** son más interesantes de estudiar, dado que esta patología es desencadenada por una infección del tracto urogenital por *Chlamydia trachomatis* o del tracto entérico por *Yersinia, Salmonella* o *Campylobacter*. Cabe destacar que el tejido sinovial de la artritis reactiva mantiene descendientes antigénicos o recuerdos de la bacteria que lo inició muchos años después de la infección que puede incentivar las células T locales. Todos los microorganismos son bacterias intracelulares obligadas o facultativas, por lo que pueden escapar del sistema inmune al ocultarse dentro de las células, tal vez auxiliadas por la producción local elevada de IL-4. No obstante, es posible que se trate de mimetismo molecular. Las infecciones naturales por *Salmonella typhimurium* generan células T citotóxicas CD8 que reconocen un epítopo inmunodominante de la moléucla GroEL presentada por la clase Ib Qa-1 y que forman reacciones cruzadas con un péptido de la hsp60 murina, lo que permite una reacción con macrófagos estresados. Las personas HLA-B27 presentan un riesgo especial y se destaca la importancia del componente microbiano en experimentos sobre ratones portadores del transgén B27; si se crían en un medio libre de microorganismos, las lesiones se restringen a la piel, pero en el medio microbiológico salvaje del hábitat animal normal están afectadas la piel, el intestino y las articulaciones. Cabe preguntarse por qué, al igual que en la AR, las articulaciones son un blanco de elección y la acción de B27. Sólo una de 300 células T de la membrana sinovial en artritis reactiva es CD8, y por lo tanto restringida por clase I. Es posible que una secuencia B27 que forma reacciones cruzadas actúe como epítopo críptico que perpetúa un estímulo microbiano leve con una respuesta autoinmune de amplificación.

Dos modelos de artritis inducidos en forma experimental muestran una fuerte dependencia de las células T. La **artritis coadyuvante** producida por la inmunización de ratas con coadyuvante completo de Freund (CFA) sólo se puede transferir a receptores no programados con un clon de células T específicas para la proteína de choque térmico micobacteriana hsp60. En el modelo de **artritis por colágeno** se aplica una inyección de colágeno tipo II en coadyuvante completo de Freund, pero aquí parece intervenir una sinergia entre la hipersensibilidad celular y el anticuerpo: la sensibilización con colágeno desnaturalizado en CFA induce inmunidad mediada por células T, pero no artritis, a menos que también se administre a los ratones IgG proveniente de animales programados con colágeno *nativo* (fig. 20-13).

Los modelos espontáneos de artritis son difíciles de obtener. Hasta el 30% de los ratones MRL/*lpr* tienen lesiones artríticas, pero esta incidencia varía con el animal huésped. Si los animales albergan virus Sendai están protegidos contra artritis; falta determinar lo que esto implica. Para completar el ciclo, también tienen niveles elevados de agalacto IgG.

Antes de terminar con el tema se debe considera el curioso comportamiento de los fibroblastos aislados de tejido sinovial en la artritis reumatoidea es tablecida. En cultivo secretan colagenasa que podría contribuir con la degradación de cartílago, pero muestran una proliferación espontánea ominosa debido al control irrestricto del ciclo celular por cinasas 4 y 6 dependientes de ciclinas y sus respectivas ciclinas-D. Esto implica que serían refractarios a las terapéuticas convencionales, y podrían ser causa de una enfermedad que no parece responder al tratamiento.

Enfermedad endocrina específica de órgano

En general, las patologías inflamatorias específicas de órgano se vinculan con respuestas de células T helper-1 (Th1). Los clones productores de EAE o que transfieren diabetes de ratones DNO elaboran IL-2 e interferón γ (IFNγ), mientras que en la artritis por colágeno se puede sustituir por IL-12 la micobacteria del coadyuvante completo de Freund. Por otra parte, los Th2 CD4 son responsables de la activación policlonal en lupus murino, la glomerulonefritis y la vasculitis necrosante inducida en ratas Brown Norway por cloruro de mercurio, y la autoinmunidad crónica generada durante la enfermedad injerto versus huésped. Se notará que las respuestas por Th2 pueden inhibir las células Th1 destructoras. Por último, no se observa la polarización Th1 / Th2 en patologías como miastenia gravis, tirotoxicosis de Graves, síndrome de Sjögren y cirrosis biliar primaria.

Tiroiditis autoinmune

Por lo general, el infiltrado inflamatorio en la tiroiditis autoinmune es en esencia de carácter mononuclear (véase fig. H19-1-1c), y si bien no es una pauta infalible, esto se tomó como expresión de hipersensibilidad mediada por células T. Aún falta obtener evidencias firmes de una participación directa de los linfocitos T, si bien la presencia de moléculas clase II en los tirocitos de los pacientes y de células Th1 específicas de antígeno en el tiroides concordaría con la intervención de estas células.

Para obtener más evidencias, aunque sean indirectas, se deben analizar modelos animales. La supresión draconiana de células T en pollos de cepa obesa mediante timectomía neonatal y la inyección repetida de suero anticélulas T impide el desarrollo espontáneo de tiroiditis autoinmune atrófica. También es interesante destacar que en el nivel de células blanco, el umbral para la inducción de CMH clase II en tirocitos OS por IFNγ es muy inferior al informado para células tiroideas normales, lo que refuerza aun más el concepto de que una anomalía tiroidea es un factor que contribuye con el fenotipo de susceptibilidad. El otro modelo, en el que se induce tiroiditis mediante tiroglobulina en coadyuvante completo de Freund (véase fig. H19-1-1b), puede transferirse a receptores histocompatibles no programados con clones de células T CD4$^+$ específicas para péptidos que contienen tiroxina establecida de animales inmunizados. Las células se infiltran entre los folículos tiroideos y es probable que destruyan las células epiteliales por combinación de IFNγ y TNF de liberación local. Ahora se entiende que hay diversidad considerable en la respuesta autoinmune contra la tiroides, lo que causa destrucción tisular, estimulación metabólica, incentivación del crecimiento o inhibición mitótica que en distintas combinaciones son responsables de las diversas formas en que se presenta la enfermedad tiroidea autoinmune (fig. 20-15).

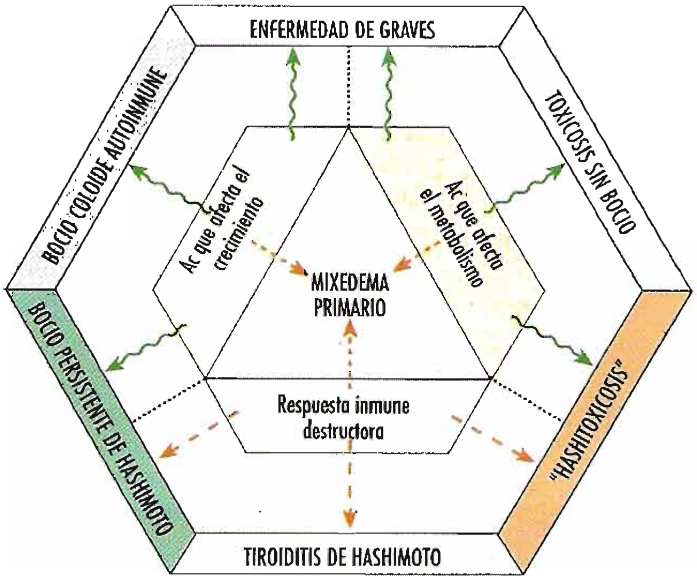


Fig. 20-15. Relación entre distintas respuestas alérgicas y el espectro circular de enfermedades tiroideas autoinmunes. Las respuestas en las que intervienen la tiroglobulina y el antígeno de las microvellosidades de superficie de peroxidasa tiroidea (microsomal) producen destrucción celular, mientras que los autoanticuerpos contra TSH (¿y otros?) receptores pueden estimular o bloquear la actividad metabólica o la división de las células tiroideas. "Hashitoxicosis" es el término coloquial utilizado por los autores escoceses para describir una glándula con tiroiditis de Hashimoto y tirotoxicosis simultánea. (Cortesía de los profesores D. Doniach y G.F. Bottazzo.)

Diabetes mellitus insulinodependiente (DMID)

Al igual que en la tiroiditis autoinmune, en la DMID hay infiltración inflamatoria crónica y destrucción del tejido específico, en este caso las células β productoras de insulina de los islotes de Langerhans del páncreas. El retraso en el inicio de la enfermedad logrado mediante el tratamiento temprano con ciclosporina, en niveles que tienen efecto escaso sobre la producción de anticuerpos, señala con dedo acusador a las células T efectoras como los agentes de destrucción, dado que este fármaco se dirige con tanta especificidad a la síntesis de citocinas por las células T. Las respuestas de células T in vitro contra los antígenos de las células de los islotes que incluyen la decarboxilasa del ácido glutámico (GAD) reflejan en forma directa el riesgo de progresión a la DMID clínica. La intensidad de los factores de riesgo asociados con ciertos alelos HLA-DQ también tiene fuerte aroma de acción de células T, si bien misteriosamente se encuentran monocitos (y quizá CPA dendríticas) que expresan en forma constitutiva ciclooxigenasa-2 (COX-2), la enzima inducible responsable de la síntesis de prostaglandina E_2 y otros prostanoides en parientes (de individuos con DMID) portadores de estos alelos y en los pacientes.

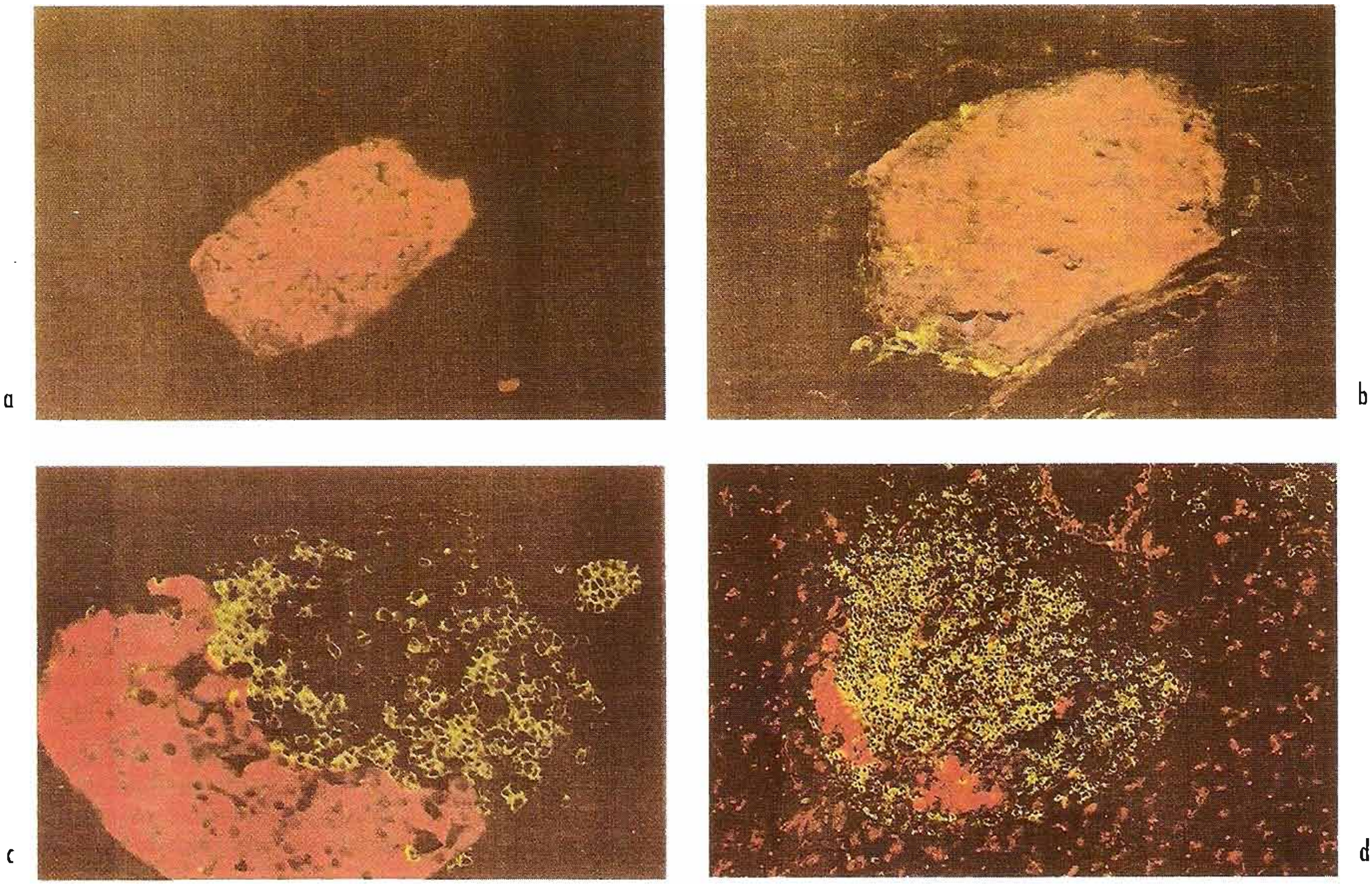


Fig. 20-16. Destrucción de las células β de los islotes pancreáticos por la infiltración de células T en el ratón diabético no obeso (DNO). a) Islote intacto normal. **b)** Infiltración temprana alrededor del islote. **c)** Destrucción casi completa de las células productoras de insulina, con el reemplazo de las células T invasoras. **d)** Insulina teñida por anticuerpos conjugados con rodamina y células T mediante anti-CD3 con fluoresceína. (Datos reproducidos por Quartey-Papafio R., Lund T., Cooke A, et al. [1995] *Journal of Immunology* **154**, 5567; fotografías cedidas gentilmente por la doctora Jenny Phillips.)

Para obtener mayores detalles sobre el ataque celular y la destrucción de las células β de los islotes se debe estudiar el **ratón diabético no obeso (DNO)** que desarrolla en forma espontánea una enfermedad diabética muy similar a la DMID humana, en lo que respecta al rango de respuestas autoinmunes y a la asociación de la degradación de los islotes debido a la infiltración crónica por células T y macrófagos (fig. 20-16). Las células T que infiltraban los islotes de ratones diabéticos presentaban un perfil de citocinas tipo Th1, y podían transferir la enfermedad a receptores DNO congénicos para la mutación de inmunodeficiencia combinada grave (*SCID*). El subtipo memoria CD4/CD45RB^{ba} de esplenocitos provenientes de ratones DNO jóvenes no diabéticos inhibía esta transferencia, pero el mismo subtipo proveniente de ratones diabéticos más viejos había perdido el poder regulador y se había transformado en patogénico. Este cambio a una respuesta de tipo Th1 concidía con el inicio de diabetes, y concordaba con la observación de que IL-12, que favorece las respuestas Th1, exacerba la enfermedad. Al igual que en el ser humano, los alelos CMH clase II mantienen una posición de control esencial, y la introducción de un transgén en el que se alteraron los residuos de las posiciones 56 o 57 de la cadena H-2Aβ inhibe en forma drástica el desarrollo de diabetes. Uno de los sitios de susceptibilidad no CMH en DNO ubicado en el mapa genético correspondiente de los genes *IL-1R* y *Bcg* en el cromosoma 1 se asoció con resistencia natural a la infección por parásitos intracelulares. Como consecuencia, el ratón DNO es resistente a *Mycobacterium avium*, pero tras la recuperación de la infección se impide el inicio de la diabetes. Los informes que sugieren que un péptido de 24 aminoácidos de esta proteína es el blanco de células T diabetogénicas en pacientes y ratones DNO implican que intervienen respuestas contra hsp60, y el tratamiento con este péptido o con un clon Th1 específico de péptido DNO inhibe la enfermedad espontánea. Cohen lo interpretó como consecuencia de la desregulación del "homúnculo inmunitario" (véase pág. 234) y observó que el nivel de un idiotipo particular asociado con un TCR CDR3 disminuye siempre antes del inicio de la diabetes, mientras que los ratones criados en condiciones libres de microorganismos que podrían inhibir el desarrollo de una red natural de idiotipos son más susceptibles a DMID. El tiempo probará la validez de esta hipótesis. No obstante esta evidencia relacionada con la hsp y los idiotipos, en el análisis final se debe considerar lo siguiente: hasta el 50% de las células T infiltrantes aisladas de islotes DNO prediabéticos es específico para insulina y puede transferir la enfermedad a ratones DNO jóvenes; también se pueden recuperar células T específicas de GAD, que son diabetógenas, y la tolerancia a insulina o GAD previene el inicio de la enfermedad. Se supone que esto último tiene lugar debido a un mecanismo de tolerancia circunstancial específico de órgano que se describe más adelante (pág. 510). En general, los datos parecen concordar con la necesidad de dos vías patogénicas, una dependiente de hsp y la otra de una respuesta específica de órgano que opera en forma sinérgica o seriada para lograr la destrucción final de las células β pancreáticas.

En los sistemas nerviosos central y periférico, GAD produce ácido γ-aminobutírico (GABA), un importante neurotransmisor inhibidor, a partir de glutamina. Los autoanticuerpos contra GAD no sólo se encuentran en la diabetes temprana, sino también en el **síndrome del hombre rígido** (como una película del oeste americano), donde son defectuosas las vías GABAérgicas que controlan la actividad de las neuronas motoras. Los anticuerpos no pueden ser patógenos, dado que hay GAD en la superficie interna de la membrana plasmática, pero las células T pueden serlo. Se desconoce cómo puede diferenciarse el blanco específico en el encéfalo del de los islotes pancreáticos, pero el 30% desarrolla DMID.

Esclerosis múltiple (EM)

Durante mucho tiempo se predicó el concepto de que la EM sería una enfermedad autoinmune, debido a la similitud morfológica con la *e*ncefalitis *a*utoinmune *e*xperimental (EAE), una patología desmielinizante que causa parálisis motriz (fig. 20-17) por inmunización con mielina, por lo general proteína básica de mielina (MBP) en coadyuvante completo de Freund. Los clones de células T específicos para MBP pertenecen a familias restringidas de TCR Vβ; transfieren la enfermedad, pero se exacerban por la inyección de un anticuerpo monoclonal contra el virus de Theiler, un virus de encefalomielitis murino que forma reacciones cruzadas con un epítopo en la mielina y los oligodendrocitos. Se supone que la célula T induce una inflamación local que afecta las células endoteliales en la barrera hematoencefálica, que abren la puerta para que el anticuerpo penetre en el tejido encefálico.

Cabe preguntarse cuánto de esto es importante para la enfermedad en el ser humano. Primero, el fenotipo caucásico DR2 determinado por serología (DRB1*1501, DQA1*0102, DQB1*0602) se asocia con firmeza con la susceptibilidad a EM. Al menos un 37% de las células T que responden a IL-2/4 en líquido cefalorraquídeo son específicas para los componentes de la mielina, en comparación con cifras del 5% para personas con otros trastornos neurológicos. Se encontró un motivo de secuencia de aminoácidos Leu.Arg.Gly en alrededor del 40% de los reordenamientos N(D)N de TCR Vβ5.2 en células T de lesiones de EM presentes en un clon Vβ5.2 proveniente de un paciente con EM citotóxico contra los blancos que contienen el péptido 89-106 de MBP, y en células T de ratas que provocan encefalitis específicas para péptido 87-99 de MBP. Esto representa un gran estímulo para continuar intentando la inducción de tolerancia.

Psoriasis

Dada la evidencia de una patogenia mediada por células T (pág. 392), el aislamiento de clones específicos para estreptococos β-hemolíticos grupo A a partir de lesiones cutáneas con forma de gota engendró la idea de que la patología es iniciada por células T reclutadas por una exotoxina (es decir, un superantígeno) y es mantenida por células específicas que reaccionan con proteína M estreptocócica y un epítopo cutáneo críptico, quizá una variante de queratina presentada por queratinocitos activados por citocina. Hay una homología extensa de secuencias entre las proteínas M y la queratina tipo I.

ALGUNOS OTROS TRASTORNOS VASCULARES SISTÉMICOS CON COMPONENTES INMUNOPATOLÓGICOS

La **granulomatosis de Wegener** se caracteriza por presentar una vasculitis granulomatosa necrosante. Si bien los anticuerpos contra proteinasa III –anti-

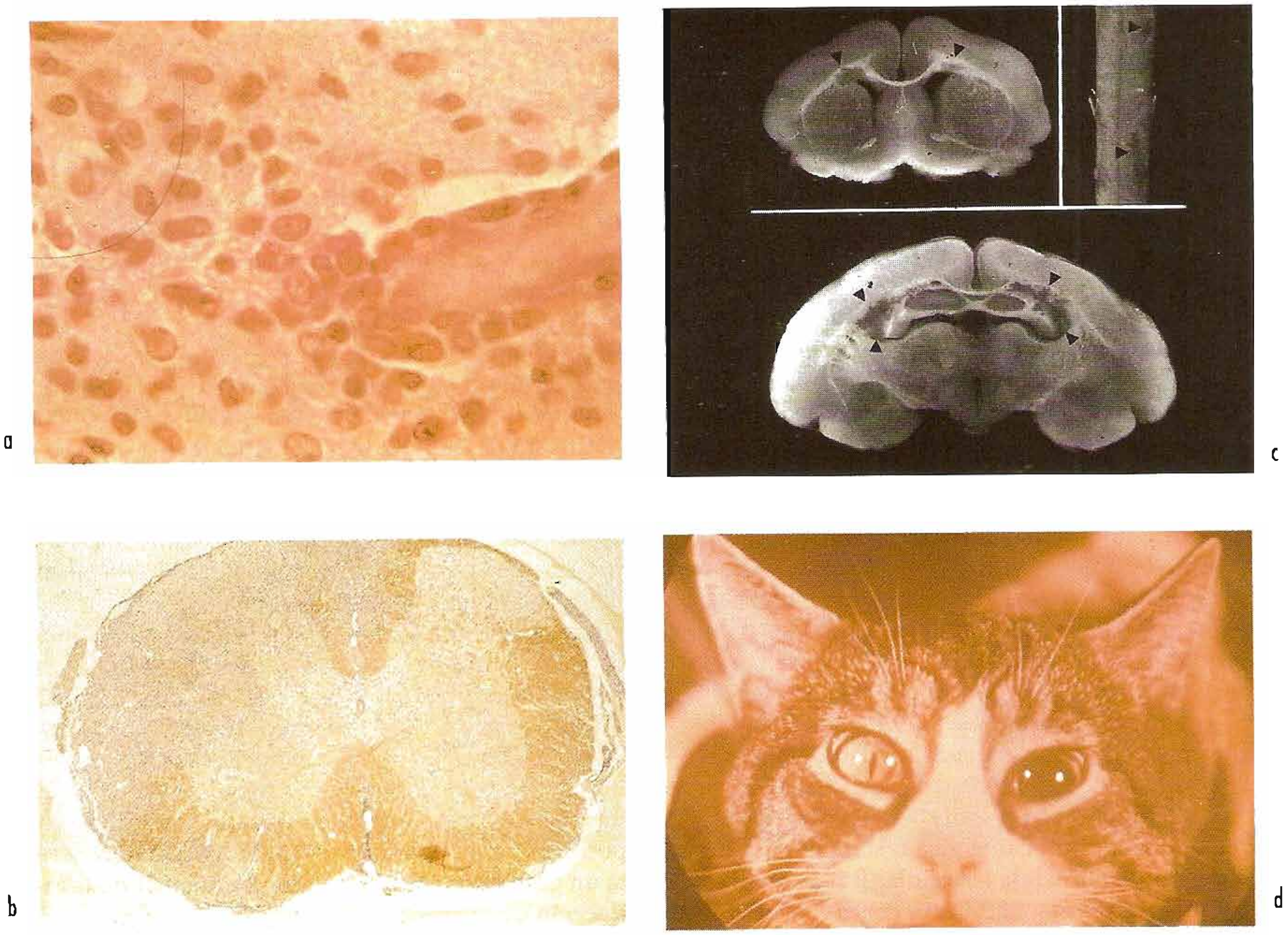


Fig. 20-17. Encefalomielitis autoinmune experimental (EAE), un modelo desmielinizante de esclerosis múltiple inducido por la inmunización con antígenos encefálicos en coadyuvante completo de Freund (CFA). a) Lesión temprana de EAE en la rata 9 días después de la inmunización con homogenado de médula espinal de rata en CFA. La lesión en la sustancia blanca encefálica, probablemente de apenas unas horas, muestra infiltración perivenosa de linfocitos y monocitos (inflamación mononuclear pura) con células que invaden el parénquima nervioso. La mielina no se tiñe. **b)** Médula espinal lumbar de rata con EAE crónica tras la inmunización con proteína proteolipídica de mielina. Se observan lesiones desmielinizantes en las columnas dorsales izquierda (grandes) y derecha (pequeña), y en la parte inferior izquierda. También está comprometida la sustancia gris, con inflamación progresiva, que afecta en particular el asta dorsal izquierda. La mielina normal se tiñe de color pardo. **c)** EAE crónica recidivante en cobayo. Se distinguen grandes placas desmielinizadas en sustancia blanca del encéfalo (flechas), muy similares a las placas de esclerosis múltiple. **d)** EAE aguda en gato, con compromiso del nervio óptico. [Epígrafes y diapositivas cedidas por el doctor B. Waksman; **b)** original del doctor Trotter, **c)** de los doctores Lassmann y Wisniewski, y **d)** del doctor Patterson.]

cuerpos citoplasmáticos antineutrófilos (cANCA); fig. 20-18 y cuadro 19-2– característicos de esta patología se dirigen contra un antígeno intracelular asociado con los gránulos primarios de los polimorfonucleares, estudios recientes revelan un posible mecanismo por el cual podrían inducir las lesiones vasculíticas. La programación por citocinas de los polimorfonucleares causan la traslocación de la proteinasa III a la superficie celular, tras lo cual la reacción con el autoanticuerpo activa la célula y produce su desgranulación y la generación de *i*ntermediarios *r*eactivos de *o*xígeno (IRO). Un escenario posible sería el siguiente: el factor de necrosis tumoral (TNF) inducido por la infección podría activar las células endoteliales para que secreten las interleucinas IL-1 e IL-8, que atraen neutrófilos, estimulan las moléculas de adhesión de las moléculas asociadas de función linfocitaria 1 (LFA-1), y las programan para que reaccionen con el anticuerpo contra proteinasa III. La lesión de la célula endotelial sería entonces consecuencia de la liberación de anión superóxido y otros IRO. Otros autores señalaron como responsables los anticuerpos contra la membrana endotelial que estimulan las moléculas de adhesión e incrementan la secreción de IL-6 e IL-8, y MCP-1. En la fracción IgM del suero de pacientes en remisión se observa la presencia de idiotipos anti-ANCA, y su eliminación descubre una actividad subyacente de IgG ANCA.

La patología de la **arteritis temporal** se caracteriza por la presencia de una arteritis de células gigantes de las arterias grandes y medianas que afecta sobre todo a las células T CD8$^+$ y los macrófagos. El antígeno es elusivo, pero la enfermedad se asocia con fuerza con HLA-DR4 y es muy sensible a dosis elevadas de esteroides.

La **esclerosis sistémica**, también denominada **esclerodermia**, es una patología generalizada del tejido conectivo, con aumento del depósito de colágeno y otros componentes de la matriz, lo que causa destrucción fibrótica extensa de la piel y los órganos internos centrada alrededor de las arterias pequeñas y la microvasculatura, para por último producir oclusión capilar. Se conoce poco sobre la patogenia, pero la gran frecuencia de resultados positivos para autoanticuerpos contra el centrómero, el nucléolo y la topoisomerasa –1 (Scl-70) y los factores reumatoideos sugieren cierta intrusión importante de elementos autoinmunes, y hay infiltración en varios sistemas por células T CD8$^+$ que secretan sobre todo TGFβ e IL-6. Hasta el presente, las únicas pautas que señalan factores etiológicos tempranos provienen de modelos animales de esclerodermia. Los ratones denominados "de piel tensa" presentan una mutación en el gen de fibrilina-1 codificador de una proteína de la matriz extracelular que podría ser responsable de la activación de las células T. Otro modelo, los pollos UCD 200, revela que la apoptosis de células endoteliales es un proceso muy temprano, quizá debido a CCDA mediada por anticuerpos contra células endoteliales; la infiltración de células mononucleares tiene lugar más adelante, con fibrosis como característica de la enfermedad tardía. De todos modos, en la esclerodermia del ser humano, el TGFβ secretado por las células T estimularía la producción excesiva de colágeno por los fibroblastos dérmicos y, por último, al igual que los fibroblastos sinoviales en la AR, adquieren una semiautonomía que hace que esta patología sea muy difícil de tratar.

Las **placas ateroscleróticas** son lesiones focales de las grandes arterias elásticas y musculares que producen engrosamiento de la íntima y se componen de una capa fibrosa subendotelial de colágeno y tejido conectivo con alto contenido en matriz, macrófagos llenos de lípido, células musculares lisas en proliferación, además de algunos linfocitos T CD4. La ruptura de una placa induce la trombosis. Se tiende a pensar que la autoinmunidad podría iniciar o exacerbar el proceso de depósito de lípidos plasmáticos y la formación de la placa. Los dos principales antígenos posibles son la proteína del choque térmico 60 (hsp60) y la lipoproteína de baja densidad (LDL) apoproteína B, que es la mayor transportadora de colesterol.

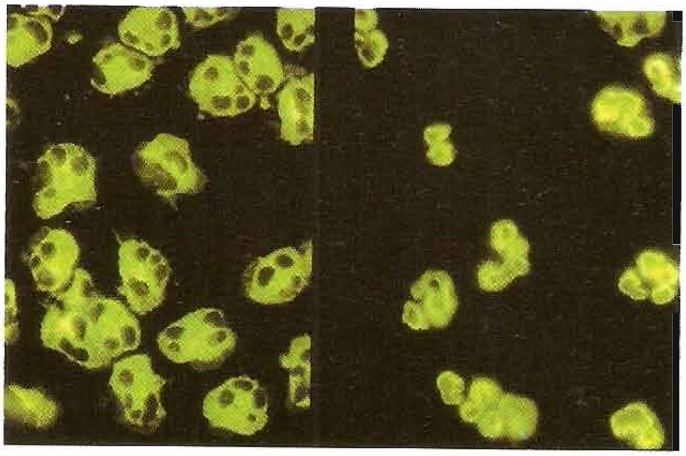


Fig. 20-18. Anticuerpos citoplasmáticos antineutrófilos (ANCA). *Izquierda*: tinción difusa específica de cANCA citoplasmáticos (véase cuadro 12-2), específica para proteinasa III en granulomatosis de Wegener; *derecha*: tinción de p-ANCA perinuclear por anticuerpos contra mieloperoxidasa en periarteritis nudosa. Primero se tratan los neutrófilos fijos con suero del paciente, y luego con Ig antihumana conjugada con fluoresceína. (Cedido gentilmente por el doctor G. Cambridge.)

A continuación se presentan las evidencias a favor de esta hipótesis (fig. 20-19). La inmunización con hsp65 micobacteriano genera lesiones ateroscleróticas en sitios predilectos clásicos sujetos a importante estrés hemodinámico, y empeoran con una dieta con alto contenido en colesterol. Se producen anticuerpos que parecen reaccionar con células endoteliales estresadas por calor o por TNF, lo que implica de alguna manera las hsp. Además, esta provocación endotelial y la activación de los macrófagos debido al contacto con LDL genera radicales libres oxidativos que convierten la lecitina dentro de las LDL en lisolecitina, para atraer agentes químicos y de acción citotóxica, y los ácidos grasos poliinsaturados en alquenales, que reaccionan con los residuos de lisina de la apoproteína B y la transforman en "sabrosa" para los receptores de residuos de los macrófagos y, quizás, autoantigénica. El estudio de estos procesos oxidativos como claves de la aterogénesis es avalado por datos epidemiológicos referidos a una correlación inversa entre las cardiopatías coronarias de los pacientes y la ingesta en la dieta de antioxidantes y la observación de que se puede prevenir la inducción de bandas grasas ate-

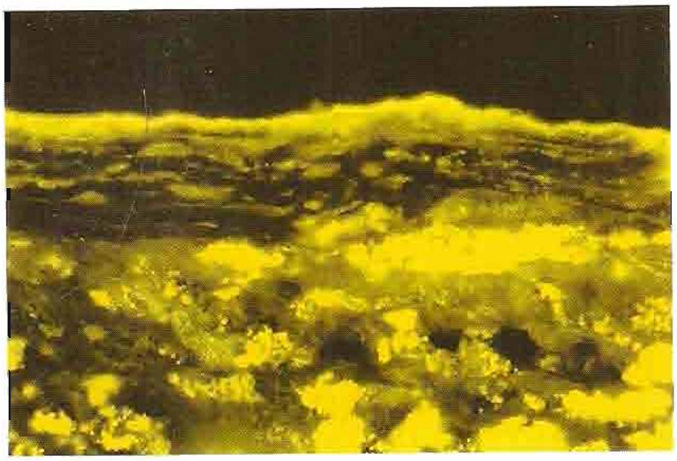


Fig. 20-19. Expresión de proteína del choque térmico 60 en una lesión arterioesclerótica humana temprana. Corte congelado y no fijado de 4 µm de una banda grasa (= lesión temprana) de una arteria carótida humana teñida por inmunofluorescencia indirecta con un anticuerpo monoclonal contra proteína del choque térmico 60 y un segundo anticuerpo marcado con fluoresceína. Es evidente una reacción firme con células endoteliales, además de las que infiltran la íntima, e incluso células espumosas. (Aumento original × 400.) (Fotografía cedida gentilmente por el profesor G. Wick.)

roscleróticas debida a dietas con alto contenido en colesterol en conejos mediante la administración del antioxidante probucol, a pesar de que no influye en los niveles de colesterol plasmático. Como otra pieza del rompecabezas, la β_2-glucoproteína-1, que aparece en gran cantidad en el síndrome antifosfolipídico (véase pág. 484), también se encuentra en abundancia en lesiones ateroscleróticas. Es un tema que aún falta aclarar.

VALOR DIAGNÓSTICO DE LAS PRUEBAS DE AUTOANTICUERPOS

A menudo, los autoanticuerpos son marcadores diagnósticos valiosos. La prueba de rutina más útil es el análisis de suero por inmunofluorescencia de cortes congelados preparados a partir de un bloque compuesto no fijado de tiroides y estómago de ser humano, y de riñón e hígado de rata. Se complementa con pruebas de aglutinación para factores reumatoideos y para tiroglobulina, peroxidasa tiroidea y anticuerpos antieritrocitarios, y con pruebas por ELISA para anticuerpos contra factor intrínseco, DNA, IgG, antígenos nucleares extractables y similares (véase cuadro 19-2). En el cuadro 20-1 se resume la información más importante. Las pruebas por ELISA adquieren mayor relevancia y algún día las pruebas con antígenos clonados a partir de genes purificados organizados en disposiciones en miniplacas suplantarán la necesidad de inmunofluorescencia, que requiere gran cantidad de tiempo y de experiencia.

Las pruebas también tendrán valor en la determinación de la población en situación de riesgo, por ejemplo, los parientes de pacientes con enfermedades autoinmunes como diabetes, pacientes con tiroiditis para autoinmunidad gástrica y viceversa, y por último la población general, si se comprenden en su totalidad y se aceptan las consecuencias sociológicas.

Será muy bienvenido el desarrollo de equipos comerciales ELISPOT para ensayos de fácil ejecución (véase pág. 155), con el objeto de controlar la producción de citocinas aisladas por células T en sangre periférica, incubadas con antígenos específicos.

TRATAMIENTO DE TRASTORNOS AUTOINMUNES

Control en el nivel del órgano blanco

No es extraño que la mayoría de los enfoques de tratamiento incluyan la manipulación de respuestas inmunes (fig. 20-20). Sin embargo, en muchas enfermedades específicas de órgano suele ser suficiente el control metabólico, por ejemplo, tiroxina de reemplazo en mixedema primario, insulina en diabetes juvenil, vitamina B_{12} en anemia perniciosa, fármacos antitiroideos en la enfermedad de Graves, etc. Los fármacos anticolinesterasa se suelen usar para tratamientos prolongados en miastenia gravis; la timectomía es beneficiosa en la mayoría de los casos, y es posible que la glándula contenga receptores de acetilcolina (ACh) en una forma inmunógena particular (¿asociada con expresión HLA clase II?).

Cabe destacar que la terapéutica de mantenimiento para reemplazar la pérdida de una molécula específica de órgano, por ejemplo, insulina en DMID, puede tener el efecto de aplacar la actividad metabólica y disminuir la expresión del antígeno blanco. Se estudian tratamientos para pacientes con células β pancreáticas agotadas. Se analiza la posibilidad de realizar xenoinjertos de islotes porcinos fetales o neonatales sometidos a ingeniería genética (véase fig. 17-15), y otras buenas noticias se refieren a que las células madre contenidas en las estructuras de los conductos del páncreas adulto se pueden diferenciar en cultivos, para proporcionar un incremento en 10.000 veces de la cantidad de islotes disponibles por órgano, si bien aún resta solucionar cierta recurrencia del daño mediado por las reacciones inmunitarias. Quizá la transfección de las células injertadas con TGFβ proprocione un microambiente supresor adecuado. Un enfoque nuevo, aunque algo elaborado, de la re-

Cuadro 20-1. *Pruebas y diagnóstico de autoinmunidad*

ENFERMEDAD	ANTICUERPO (CONTRA)	COMENTARIOS
Tiroiditis de Hashimoto	Tiroides	Distinción de bocio coloidal, cáncer de tiroides y tiroiditis subaguda Por lo general es innecesaria la tiroidectomía en bocio de Hashimoto
Mixedema primario	Tiroides	Pruebas positivas en el 99% de los casos. Si se sospecha hipotiroidismo se evalúa la "reserva tiroidea" mediante pruebas de estimulación de TRH
Tirotoxicosis	Tiroides	Títulos elevados de Ac citoplasmático indican tiroiditis activa y tendencia a mixedema posoperatorio: los fármacos antitiroideos son el tratamiento de elección, si bien los pacientes HLA-B8 tienen probabilidades elevadas de recurrencias
Anemia perniciosa	Estómago	Contribuye con el diagnóstico de AP latente, para el diagnóstico diferencial de anemia megaloblástica no autoinmune y en la sospecha de degeneración combinada subaguda de la médula espinal
Diabetes mellitus insulinodependiente (DMID)	Páncreas	Ac de insulina al comienzo de la enfermedad. Prueba estándar de Ac GAD para DMID. Se detectan dos o más autoAc en el 80% de niños con nuevo inicio o parientes prediabéticos, pero no en controles
Atrofia suprarrenal idiopática	Suprarrenales	Distinción de la forma tuberculosa
Miastenia gravis	Músculo	Cuando es positivo sugiere timoma asociado (más probable si es HLA-B12), positivo en > 80%
	Receptor de ACh	
Pénfigo vulgar y penfigoide	Piel	Distintos patrones fluorescentes en las dos patologías
Anemia hemolítica autoinmune	Eritrocitos (prueba de Coombs)	Diferenciación de otras formas de anemia
Síndrome de Sjögren	Células de los conductos salivales, SS-A, SS-B	
Cirrosis biliar primaria	Mitocondrias	Diferenciación de otras formas de ictericia obstructiva, donde las pruebas rara vez son positivas Reconoce el subgrupo dentro de la cirrosis criptogénica relacionada con CBP, con Ac mitocondrial positivo
Hepatitis crónica activa	Antinuclear de músculo liso y 20% mitocondrial	Ac contra músculo liso lo distingue de LES Tipo 1, clásico en mujeres con Ac contra receptores en núcleos, músculo liso, actina y asialoproteína (estos Ac desaparecen en las remisiones, lo que indica disminución de esteroides) Tipo 2 en niñas y mujeres jóvenes con anti-LKM-1 (cit P450)
Artritis reumatoidea	Antiglobulina, p. ej., SCAT y fijación del látex Antiglobulina + agalacto-Ig elevado Perinuclear	Título elevado indica mal pronóstico Pronóstico de artritis reumatoidea Muy específico para AR temprana. Residuo dominante: citrulina (modificación postraduccional de arginina)
LES	Título elevado antinuclear, DNA	Anticuerpos DNA presentes en Ac de fase activa contra DNA bicatenario característico; Ac fijador de complemento de alta afinidad produce daño renal, el de baja afinidad produce lesiones en SNC
	Fosfolípidos	Trombosis, pérdida fetal recurrente y trombocitopenia
Esclerodermia	Nucléolo + centrómero Scl-70	Característica de la enfermedad
Granulomatosis de Wegener	Citoplasma de neutrófilos	Proteasa antiserina muy asociada con la enfermedad; tratamiento urgente

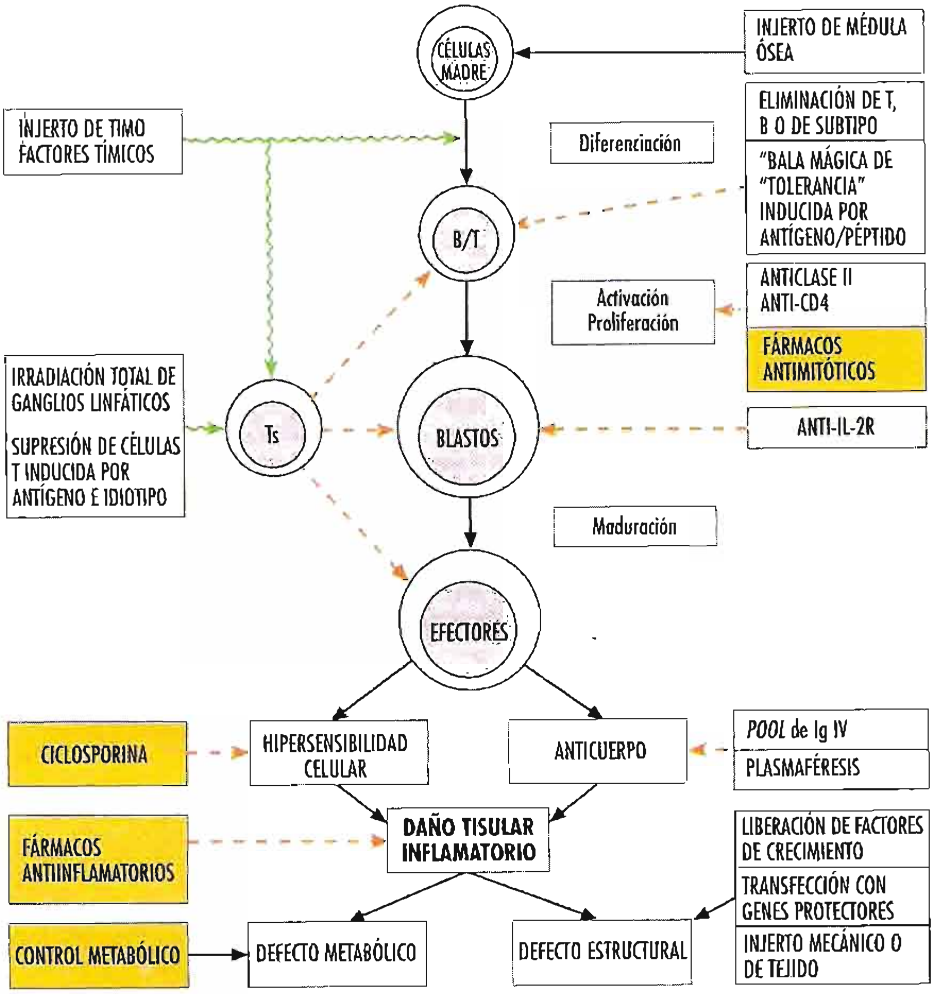

CÉLULAS MADRE
INJERTO DE MÉDULA ÓSEA
INJERTO DE TIMO FACTORES TÍMICOS
Diferenciación
ELIMINACIÓN DE T, B O DE SUBTIPO
"BALA MÁGICA DE "TOLERANCIA" INDUCIDA POR ANTÍGENO/PÉPTIDO
B/T
Activación Proliferación
ANTICLASE II ANTI-CD4
FÁRMACOS ANTIMITÓTICOS
IRRADIACIÓN TOTAL DE GANGLIOS LINFÁTICOS
SUPRESIÓN DE CÉLULAS T INDUCIDA POR ANTÍGENO E IDIOTIPO
Ts
BLASTOS
ANTI-IL-2R
Maduración
EFECTORES
CICLOSPORINA
HIPERSENSIBILIDAD CELULAR
ANTICUERPO
POOL de Ig IV
PLASMAFÉRESIS
FÁRMACOS ANTIINFLAMATORIOS
DAÑO TISULAR INFLAMATORIO
LIBERACIÓN DE FACTORES DE CRECIMIENTO
TRANSFECCIÓN CON GENES PROTECTORES
INJERTO MECÁNICO O DE TEJIDO
CONTROL METABÓLICO
DEFECTO METABÓLICO
DEFECTO ESTRUCTURAL

Fig. 20-20. Tratamiento de la enfermedad autoinmune. Los tratamientos convencionales actuales se presentan de color naranja oscuro; algunos enfoques factibles se muestran en recuadros de color naranja más claro. (En el caso de un injerto vivo, parte inferior derecha, la terapéutica inmunosupresora utilizada puede proteger el tejido contra el daño autoinmune que afectaba el órgano reemplazado.)

paración de órganos blanco afectados se orienta hacia un clon de células T específicas no patógena que expresen un factor de crecimiento transgénico para la zona inflamada. Así, un clon no agresivo de células Th2 específicas para el antígeno de proteolípido encefálico (PLP) libera un factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF-A) transgénico al encéfalo inflamado de un animal con EAE; el contacto con el antígeno estimula el clon, y el factor de crecimiento secretado induce la proliferación de las células progenitoras de oligodendrocitos que intervienen en la remielinización. Es una terapéutica muy personalizada, sólo adaptable a casos muy especiales; pero un atajo menos oneroso sería inyectar un plásmido DNA codificador de ligando Fas en liposomas directamente en el órgano atacado. Esta manipulación se efectuó en un modelo de tiroiditis autoinmune experimental e indujo la expresión persistente de FasL en células foliculares tiroideas y la inhibición total de linfocitos T citotóxicos antitiroglobulina.

El lector recordará la proliferación espontánea de fibroblastos sinoviales de AR en cultivo. Estas células presentan detención irreversible del ciclo celular si se las somete a irradiación γ, que induce la síntesis de la proteína de senescencia $p16^{INK4a}$, un supresor tumoral que bloquea la asociación estable de las cinasas 4 y 6 dependientes de ciclina, con sus respectivas D-ciclinas, e inhibe su capacidad para dirigir el pasaje de las células a la fase G1 del ciclo de crecimiento celular. La inyección en los fibroblastos de AR de un adenovirus recombinante codificador del gen *p16*^{INK4a} detuvo su crecimiento y disminuyó la hiperplasia de las células sinoviales en el modelo de artritis por coadyuvante. Si la atención centrada en la expresión de este gen favorece un nuevo enfoque terapéutico de AR, también podría ser de utilidad en otros trastornos, como aterosclerosis, esclerodermia y quizá los estadios tardíos del asma. Cabe concebir que los beneficios de agregar metotrexato a la terapéutica anti-TNF en AR (véase más adelante) se podrían atribuir a un efecto sobre la proliferación de fibroblastos.

Sobre la base de la posibilidad de un director viral en la esclerosis múltiple se trataron los pacientes con IFNβ; las tasas de recurrencia disminuyeron en un tercio en la enfermedad con caídas y remisiones, y sólo se observó un efecto modesto en la enfermedad progresiva. No obstante, nótese que el IFNβ influye sobre algunas funciones de las células T, además de sus efectos sobre la proliferación viral.

Fármacos antiinflamatorios

Los pacientes con síntomas de miastenia severa responden bien a dosis elevadas de corticoides, lo mismo vale para los casos graves de otros trastornos autoinmunes, por ejemplo LES y nefritis por complejos inmunes, donde el fármaco contribuye para suprimir las lesiones inflamatorias.

Los corticoides son muy efectivos en la AR, pero el reconocimiento de defectos del circuito de retroalimentación hipofisario-suprarrenal en estos pacientes inspiró un nuevo enfoque, dirigido a restablecer los niveles normales de corticosteroides a través de un depósito de metilprednisolona (Depomedrona) que libera una dosis diaria baja; cuanto más temprano en la enfermedad, mejor. Este tratamiento acelera la inducción de las remisiones y disminuye los efectos secundarios de los agentes de segunda línea, como las sales de oro. Las selectinas y las moléculas de adhesión sobre las células endoteliales y las integrinas de los leucocitos parecen estar inhibidas, lo que impediría el influjo de células inflamatorias hacia la articulación. Son muy usados los antiinflamatorios, por ejemplo, salicilatos, innumerables inhibidores sintéticos de prostaglandinas y venenos de metaloproteinasas. Los antes denominados fármacos de segunda línea, por ejemplo, sulfalazina, penicilamina, sales de oro y agentes antipalúdicos, como cloroquina, ocupan un lugar importante en la terapéutica, si bien se desconoce su modo de acción.

El tratamiento con anticuerpos contra moléculas de adhesión como CD44 bloquea en forma efectiva la artritis experimental, aunque se presentan problemas prácticos y económicos considerables al adaptarlo a la enfermedad en el ser humano. El bloqueo terapéutico de otros mediadores que intervienen de manera directa en la lesión inmunitaria del tejido será posible cuando se disponga de citocinas y antagonistas del complemento. En el corto plazo es más efectivo el TNF neutralizante con un anticuerpo monoclonal humanizado, lo que revela el papel patógeno de esta citocina. Es muy significativo que la administración sinérgica con metotrexato parece ofrecer beneficios más duraderos (fig. 20-21). La transfección de células sinoviales con el antagonista de receptor natural de IL-1 IL-1Ra puede llegar a ser una estrategia útil en el largo plazo.

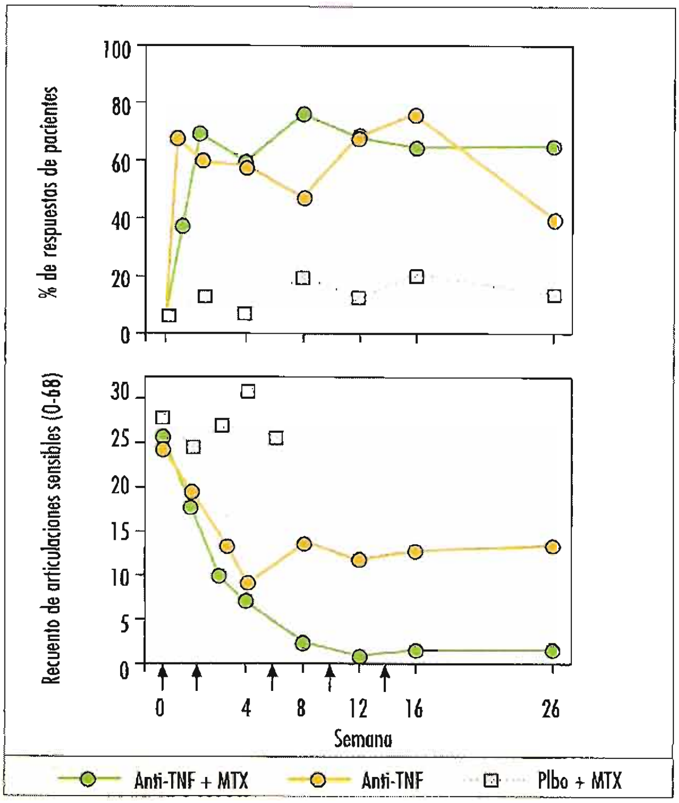


Fig. 20-21. Sinergia de anti-TNF y metotrexato en el tratamiento de artritis reumatoidea. Figura superior: duración de la respuesta a la terapéutica, definida por el criterio de Paulus del 20% con tres dosis de anti-TNF quimérico monoclonal (infliximab) con metotrexato (MTX) y placebo (Plbo) más MTX, o sin estos agentes. Los resultados presentados indican proporcionalidad (%) de los pacientes que respondieron a las semanas 1, 2, 4, 8, 12, 16, y 26. La respuesta de Paulus se logra mediante mejorías del 20% en cuatro de seis de los siguientes cuadros: valores para articulaciones sensibles y aumentadas de tamaño, duración de la rigidez matinal, velocidad de eritrosedimentación y una mejoría en dos grados de la evaluación de la severidad de la enfermedad por el paciente y el observador. Figura inferior: determinaciones seriadas (valor medio) del recuento de articulaciones sensibles, antes (día 0), durante (semanas 1-14) y después (semanas 14-26) del tratamiento. Los resultados se incluyen sólo hasta el punto en el que hasta el 50% de los pacientes permanecía en el estudio (hasta la semana 6 para el grupo placebo más MTX). Las flechas indican el momento de las infusiones de infliximab en las semanas 0, 2, 6, 10 y 14. Se administró metotrexato en forma semanal y casi erradicó la producción de anticuerpos contra el anticuerpo quimérico humano. (Datos cedidos gentilmente por los profesores R.N. Maini, M. Feldmann et al., véase Maini R.N. et al. [1998], reproducido con autorización de Lippincott, Williams & Wilkins, Md, USA, *Arthritis and Rheumatism* **41**, 1552.)

Fármacos inmunosupresores

En cierto sentido, dado que bloquea la secreción de citocinas por las células T, la ciclosporina es un fármaco antiinflamatorio, y como las citocinas del tipo de la IL-2 también son indispensables para la proliferación de los linfocitos, la ciclosporina es además un fármaco antimitótico. Se probó su eficacia en uveítis, en diabetes temprana tipo I, en síndrome nefrótico y en psoriasis, y tiene moderada eficacia en púrpura trombocitopénica idiopática, LES, polimiositis, enfermedad de Crohn, cirrosis biliar primaria y miastenia gravis. En un estudio aleatorizado controlado, doble ciego, se demostró que la ciclosporina permite la supresión significativa, aunque no completa, de la enfermedad durante más de 12 meses en un grupo de pacientes con artritis reumatoidea (AR) refractaria. Es de lamentar la necesidad de utilizar dosis elevadas y tóxicas, pero la sinergia con rapamicina sugiere con firmeza la realización de un estudio de terapéutica combinada. La leflunomida es un agente nuevo promisorio para el tratamiento de AR. El metabolito activo inhibe la síntesis de novo de rUMP, que induce la detención en G1 del ciclo de los linfocitos.

Mientras se esperan terapéuticas más selectivas se utilizan con eficacia agentes antimitóticos convencionales inespecíficos, como azatioprina, ciclofosfamida y metotrexato, por lo general combinados con esteroides, para el tratamiento de LES, AR, hepatitis crónica activa y anemia hemolítica autoinmune, por ejemplo. Por sus efectos sobre el sistema inmune periférico, la administración IV de dosis elevadas de ciclofosfamida más hormona adrenocorticotrópica (ACTH), o la irradiación total del ganglio linfático tornan más lento o detienen el avance de la enfermedad en alrededor de los dos tercios de los pacientes con esclerosis múltiple (EM) progresiva durante 1-2 años, lo que constituye un indicador firme de que la enfermedad es mediada por mecanismos inmunes. Esto es avalado además por el hallazgo lamentable de que el IFNγ exacerba la enfermedad en la mayoría de los casos. Cuando se pulsan pacientes con EM con Campath-1H monoclonal humanizado antileucocitario (anti-CD52) se produce una reducción notable y muy persistente de la cantidad de células T. Durante un período de más de 2 años casi no se detectaron lesiones nuevas, si bien en la mitad de los pacientes hubo progreso de las preexistentes. Un 33% desarrolló enfermedad de Graves, aunque esta estadística perturbadora no es característica de muchos otros trastornos en los que se usó Campath-1H, incluso AR.

Es verdad que el modelo animal de EAE se puede someter a manipulaciones muy diversas: el antidepresivo roliprim suprime la producción de citocinas, un derivado no hipocalcémico de vitamina D_3 bloquea con fuerza la secreción de IL-2, los inhibidores de fosfodiesterasa tipo IV suprimen las células Th1, y el bloqueo de los receptores no *N*-metil-D-aspartato (NMDA) disminuyen las secuelas neurológicas. El problema radica en que es muy difícil llevar a cabo estudios clínicos en EM, por lo que es probable que muy pocos de estos enfoques lleguen a ver la luz del día.

Estrategias de control inmunitario

Manipulación celular

Algún día se llevará a la práctica la posibilidad de corregir los defectos importantes de las células madre o los procesos tímicos mediante terapia génica, trasplante de médula ósea o de timo, o quizás, en el último caso, con hormonas del timo. Muchos centros están abocados a intentar trasplantes autólogos de células madre tras la hematoinmunoablación mediante fármacos citotóxicos en casos severos de enfermedad autoinmune. Alrededor de las dos terceras partes de los estudios de casos difíciles de LES, esclerodermia, AR juvenil y del adulto, y similares, se estabilizaron o mejoraron. El riesgo de mortalidad relacionado con el trasplante a los dos años fue del 8 ± 6%, comparable con el que se encuentra en pacientes con cáncer.

Si los defectos de la muerte celular programada en las células T activadas por antígeno contribuyen de alguna manera con el desarrollo de ciertas patologías autoinmunes puede tener acción terapéutica la bisindolilmaleimida, que potencia las señales apoptósicas débiles y moderadas.

Dado que las señales de las células T son tan importantes, son el blanco de numerosas estrategias (fig. 20-22). La inyección de anti-CMH clase II y anti CD4 monoclonales detiene el lupus en modelos murinos espontáneos, y vale tener en cuenta las observaciones clínicas preliminares de que la inyección de inmunoglobulinas eluidas de placenta, que según se demostró contienen anti-aloclase II, atenúa de modo significativo los síntomas de AR. La inmunización con un péptido cíclico proveniente de una región polimorfa de la cadena β de la molécula clase II diabética no obesa (DNO) protegió una gran proporción de ratones contra la enfermedad. No se sabe con certeza si el mecanismo incluye el bloqueo de la presentación del antígeno por el CMH o se relaciona con la hipótesis de mimetismo del CMH (véase pág. 472).

Algunos utilizan el enfoque del anti-receptor para -IL-2 a fin de deplecionar las células T activadas (fig. 20-22-1), pero conviene retrotraerse al análisis del efecto prolongado de anti-CD *no eliminador* para la inducción de tolerancia (fig. 20-22-2 y 3), en particular cuando se refuerza debido a la exposición repetida al antígeno (véase pág. 413). Es obvio que el refuerzo del antígeno es una característica continua indudable de la enfermedad autoinmune, por lo que anti-CD debería ser la terapéutica ideal en los trastornos en los que las señales tolerógenas naturales de "desactivación" aún son aceptadas por las células CD4. Los estudios en marcha de AR todavía son promisorios. Se registraron remisiones excelentes en pacientes con granulomatosis de Wegener refractaria al tratamiento normal, tras la inyección en secuencia de anti-CD52 (Campath-1H) y monoclonales anti-CD4 no eliminadores.

Es posible manejarse sin problemas en la vida con un conjunto completo de los genes *Vβ* de los TCR, después de todo, los ratones salvajes, y quizá también el hombre, eliminan grandes porciones de familias Vβ durante la diferenciación tímica, y no parecen sufrir gran daño por ello. Se supone entonces que si los clones de células T autoinmunes específicos para el autoantígeno en una patología determinada se restringen a los miembros de una familia Vβ en particular se podrían eliminar todos los miembros de esa familia in vivo mediante el anticuerpo adecuado y aun así no generar alteraciones irreparables en las defensas del huésped (fig. 20-22-6). En ratones PL inmunizados con el péptido N-terminal de la proteína básica de mielina, el anti-Vβ8 eliminó casi por completo la encefalitis autoalérgica experimental, por lo que la estrategia es aplicable. No ocurre lo mismo con ratones SJL, que responden a péptido 89-101 con el 50% de las células T que utilizan receptores Vβ17; en este caso, anti-Vβ17 no bloquea la enfermedad. Es obvio que se deben suspender los juicios sobre la factibilidad general de la estrategia hasta disponer de conocimientos más amplios sobre la extensión de la restricción Vβ para cada antígeno y para cada individuo.

Pero si se adopta el punto de vista de que los complejos inmunes de factor reumatoideo son elementos importantes en la patogenia de las lesiones articulares en la AR, la lógica sugiere el enfoque radical de la ablación de células T con anti-CD20 monoclonal, como se utiliza en el tratamiento de la leucemia por células B. Hasta el presente, los resultados son muy alentadores.

Manipulación de mediadores reguladores

Es posible corregir algunos modelos espontáneos de enfermedad autoinmune mediante la inyección de citocinas: IL-1 cura la diabetes de ratones DNO; TNF previene el inicio de los síntomas de LES en híbridos NZB×W; asimismo se sabe que el factor de crecimiento en transformación β1 (TGFβ1) protege contra artritis por colágeno y EAE recidivante. Ya se recordaron las dosis de esteroides de mantenimiento para restablecer el control por retroalimentación suprarrenal defectuoso sobre los leucocitos en la AR.

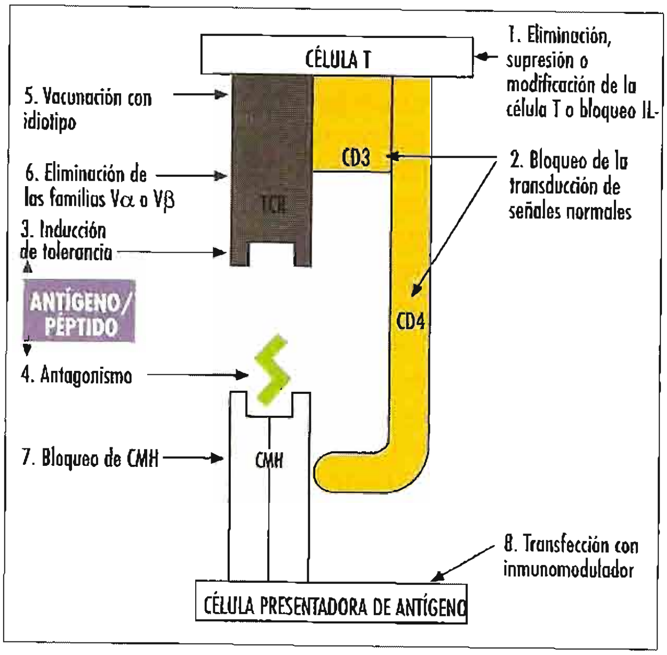

CÉLULA T
1. Eliminación, supresión o modificación de la célula T o bloqueo IL-
5. Vacunación con idiotipo
6. Eliminación de las familias Vα o Vβ
TCR
CD3
2. Bloqueo de la transducción de señales normales
3. Inducción de tolerancia
ANTÍGENO/ PÉPTIDO
CD4
4. Antagonismo
7. Bloqueo de CMH
CMH
8. Transfección con inmunomodulador
CÉLULA PRESENTADORA DE ANTÍGENO

Fig. 20-22. Opciones estratégicas para la terapéutica basada en los blancos de las células T.

Si ahora se considera como inamovible el concepto de que el subtipo Th1 es patógeno en la enfermedad específica de órgano sólido, deberían ser beneficiosos los intentos tendientes a modificar el fenotipo a Th2. Sobre la base de la suposición de que IL-4 o IL-10 pueden efectuar esta modificación, el tratamiento de un individuo autoinmune con estas citocinas debería inactivar las células Th1, como se observó en el modelo EAE. La exacerbación de la enfermedad mediada por Th1 mediante IL-12 planteó la posibilidad de que el dímero muy ávido de una de las cadenas del receptor para IL-12 podría ser un inhibidor poderoso. No obstante, con la excepción de los esteroides en la AR, hay una brecha importante entre la terapéutica de los animales de experimentación y la aplicación a la enfermedad en el ser humano. La sugerencia anterior referida a la transfección del órgano blanco con una citocina protectora, por ejemplo, TGFβ (fig. 20-22-8), puede llegar a ser una buena posibilidad (¿visiones de disparos biolísticos contra los islotes antes del trasplante?).

Control de idiotipos con anticuerpos

La acción inmunosupresora poderosa de los anticuerpos antiidiotipo generó muchas elucubraciones sobre la factibilidad de controlar la producción de autoanticuerpos al provocar interacciones adecuadas dentro de la red inmunitaria. Ya se centró la atención en las íntimas interacciones reticulares entre los receptores de hormonas, las hormonas y sus respectivos anticuerpos (véase pág. 235), y es posible que los trastornos autoinmunes relacionados con estos receptores sean en especial sensibles al control de idiotipo. Hay conciencia creciente respecto de que, en general, se puede lograr mayor supresión fundamental mediante el uso de elementos internos de la red de idiotipos, en lugar de los reactivos antiidiotipos generados en otras especies. Así, los antiidiotipos xenogénicos sólo aportaron mejoras transitorias y parciales en la tiroiditis espontánea de la rata Buffalo y el lupus autoinmune de los ratones NZB×W, presumiblemente debido a la compensación a través de clones negativos de idiotipo. Por otra parte se lograron cambios mucho más profundos mediante el tratamiento con autoanticuerpos monoclonales (idiotipos) derivados de la cepa autoinmune en cuestión. Así, se informó que la administración previa con coadyuvante de dos péptidos obtenidos de las CDR de un monoclonal anti-DNA Id$^+$ 16/6 patógeno murino inhibe la inducción de LES por inmunización con el monoclonal intacto en CFA.

Es curioso que la **inyección intravenosa de Ig obtenida de muchos donantes normales** es un beneficio positivo en varias patologías sanguíneas autoinmunes, abortos recurrentes asociados con anticuerpos de cardiolipina, dermatomiositis juvenil y pacientes con autoanticuerpos contra factor procoagulante VIII. Este último se estudió con bastante detalle, y los efectos inhibitorios de las fracciones F(ab')$_2$ provenientes del *pool* de Ig normales sugieren que se trata de reacciones antiidiotípicas; es como si el *pool* normal tendiera a restablecer una red controlada en forma correcta. Son observaciones interesantes que merecen consideración seria, aunque en cierta medida su uso se ve frustado por el costo elevado.

Vacunación con idiotipos de células T

Es posible proteger los animales contra la inducción de encefalomielitis alérgica experimental por medio de la inmunización con un clon de células T atenuadas específico para proteína básica de mielina (MBP). Esto debe ser mediado por la inducción de células T supresoras específicas para el idiotipo de receptor de células efectoras. La confirmación proviene de experimentos en los que se demostró que se puede prevenir la encefalitis si primero se inmunizan los ratones con un péptido sintético proveniente de la cadena Vβ del clon generador de encefalitis; este procedimiento genera células T CD8 específicas para el péptido receptor presentado por CMH clase I, y que transfiere protección contra la inducción de encefalitis.

Este artilugio (fig. 20-22-5) se aplicó ahora a las enfermedades en el ser humano. Se utilizó una vacuna de péptido TCR que incluye la secuencia Vβ5.2 expresada en las placas de EM y en células T específicas para BMP con el objeto de tratar los pacientes con EM en un estudio doble ciego (10 μg por semana durante 4 semanas y luego una vez al mes durante 10 meses). La falta de respuesta a la vacunación se asocia con un aumento de la respuesta a MBP y progresión clínica, pero la vacunación exitosa incrementó la frecuencia de células T específicas para péptido TCR, redujo la frecuencia de células específicas para MBP e impidió la progresión clínica sin efectos secundarios. Se observó un predominio de células reactivas similar a Th2, que inhibían en forma directa las respuestas Th1 específicas de MBP, sobre todo por medio de la liberación de IL-10 y quizá a través de una red reguladora antiidiotípica. Si bien muchas de las células T de las lesiones no pertenecen a la familia Vβ5.2, se pueden desactivar mediante tolerancia accesoria relacionada con el órgano (véase fig. 20-22).

Se utilizó la vacunación con células T para la protección contra el desarrollo espontáneo de diabetes en ratones DNO y la producción de artritis tras la sensibilización con colágeno tipo II. También se demostró la posibilidad de desactivar la artritis inducida por coadyuvante de Freund mediante un clon atenuado de células T generado en respuesta a la proteína del choque térmico micobacteriana de 65 kDa. Este modelo de adyuvante se analizó en profundidad (I. Cohen). Es perverso que las respuestas más tempranas de células T anteriores a la artritis inducida por coadyuvante se refieran a la supresión específica de antígeno y a la reactividad antiidiotípica; las respuestas contra el antígeno emergen pocos días antes de la aparición de artritis clínica. La vacunación con células T acelera la cinética de la respuesta al antígeno, anula la supresión específica de antígeno, activa las células T antiidiotípicas e inhibe la artritis. La aparición extremadamente rápida de supresores antiidiotipo y específicos de antígeno tan pronto, tras la inmunización con la proteína del choque térmico de 65 kDa,

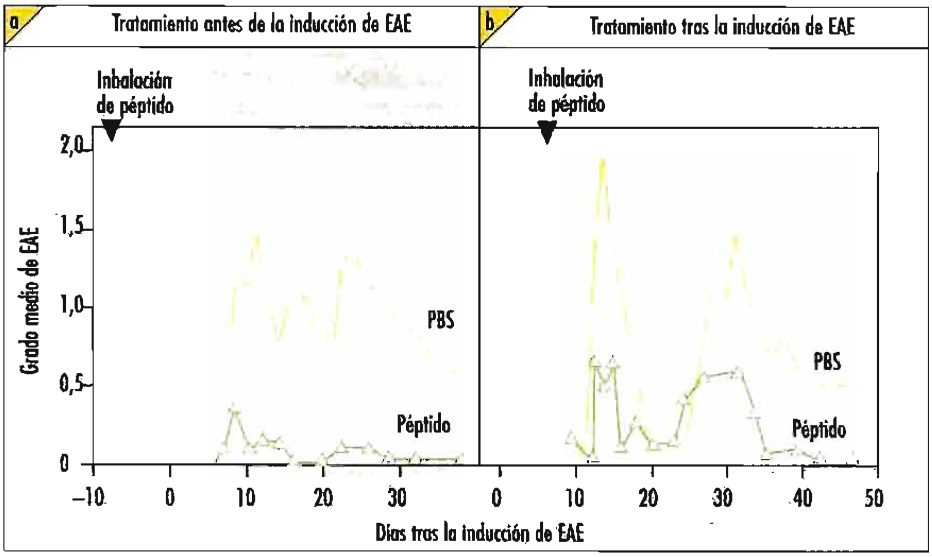


Fig. 20-23. Influencia de la inhalación de péptidos en la encefalomielitis autoinmune experimental (EAE) inducida por médula espinal porcina en coadyuvante completo de Freund. Los aerosoles de los péptidos se inhalaron **a)** 8 días antes y **b)** 8 días después de la inyección del generador de encefalitis. Una dosis única puede conferir protección prolongada, que se extiende en forma indefinida si se timectomizan los ratones. La regulación depende de la IL-10, y se pueden transformar en tolerantes las células Th1 y Th2. La administración de un solo epítopo peptídico de células T puede inducir tolerancia contra otros epítopos autoantigénicos en la misma proteína (supresión vinculada) y contra epítopos sobre distintos antígenos dentro del tejido nervioso utilizado para la inmunización (tolerancia adicional). PBS, solución fisiológica con buffer de fosfato; el péptido era un undecámero N-terminal acetilado proveniente de proteína básica de mielina con lisina en la posición 4 en lugar de alanina. (Datas de Metzler B & Wraith D.C. [1996] *Annals of the New York Academy of Science* **778**, 228, con autorización de los editores.)

vuelve a sugerir con firmeza una red preexistente vinculada con los epítopos sobre este antígeno, entedidos de acuerdo con el concepto de "homúnculo inmunitario" (véase pág. 234). Si la disfunción de la red produce enfermedad autoinmune, la vacunación con epítopos de receptor de células T podría representar un intento lógico tendiente a restablecer el control natural.

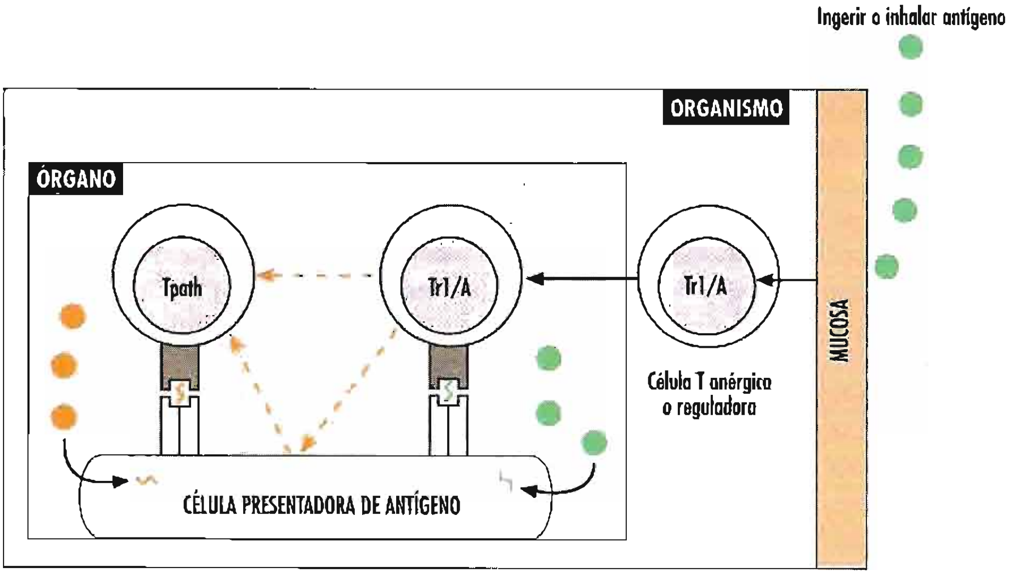

Ingerir o inhalar antígeno
ORGANISMO
ÓRGANO
Tpath
Tr1/A
Tr1/A
Célula T anérgica o reguladora
MUCOSA
CÉLULA PRESENTADORA DE ANTÍGENO

Fig. 20-24. Tolerancia circunstancial vinculada con el órgano inducida por la ingestión o la inhalación de un autoantígeno relacionado con el órgano. Las células T específicas para tolerógenos anérgicas o reguladoras por inducción (Tr1/A) ingresan en el organismo e inhiben las células T patógenas (Tpath) sobre la misma célula presentadora de antígeno que procesa el tolerógeno y el otro antígeno derivado del órgano reconocido por la célula patógena. Los reguladores actúan por medio de la producción de IL-10 y posiblemente TGFβ, que inhibe las células Th1 en forma directa o por un efecto intermedio sobre la célula presentadora de antígeno.

Manipulación por antígeno

El objeto es presentar el antígeno agresor en concentración suficiente, y en la forma que activará una respuesta autoinmune continua. Dado que se les acordó a las células T un papel tan esencial, es natural diseñar la estrategia en función de los epítopos de las células T en lugar de todo el antígeno, lo que constituye una proposición mucho más práctica, dado que reduce el problema a trabajar con péptidos relativamente cortos. Una estrategia implica diseñar análogos de péptidos con gran afinidad que se unan con obstinación a la molécula CMH adecuada y antagonicen la respuesta al autoantígeno (fig. 20-22-4). Dado que se expresan varias moléculas CMH diferentes, esto no debería deteriorar en forma indebida las defensas antimicrobianas. No obstante, ahora se habla de pacientes, y no de ratones, lo que podría implicar la repetición de dosis muy elevadas de péptidos, aunque cabe reconocer que éstos se encuentran bien definidos desde el punto de vista químico y son de costo *bastante* bajo. La supresión específica de antígeno de las células T (fig. 20-22-3) tendría sus ventajas al respecto, y debería ser posible la administración del péptido bajo el paraguas de anti-CD4 o el uso de agonistas parciales (véase fig. 9-8). La inyección de un péptido MBP, en particular como derivado palmitoilado insertado en liposomas, puede bloquear la EAE, y un péptido hsp60 puede impedir el inicio de diabetes en el ratón DNO (véase pág. 498). El conocimiento de los beneficios terapéuticos de insulina inyectada en el modelo DNO impulsó un estudio en gran escala sobre la patología en el ser humano, y se lograron mejorías clínicas considerables en pacientes con EM que se exacerba-remite con la administración de Cop1, un copolímero aleatorio de alanina, ácido glutámico, lisina y tirosina, con la intención de estimular MBP. Se inyectó Cop1 subcutánea a diario en muchos miles de pacientes, por lo que se redujo el riesgo de recidivas desde el 1,5 por año en el comienzo a menos de 1 cada 5 años, sin incrementos en la discapacidad neurológica. El copolímero compite con MBP y otros antígenos encefálicos por la unión con CMH y con los receptores de células T afines, e induce las células T supresoras que también se generan cuando se incorpora el antígeno.

Ya se destacó que como la superficie mucosa del intestino está expuesta a una horda de microorganismos con amplio potencial inmunógeno, y dado que los enterocitos son en especial vulnerables a lesiones por la acción de IFNγ y TNF, para las defensas inmunitarias del intestino es importante desarrollar mecanismos que detengan las respuestas tipo Th1. Este objetivo se logra luego de la estimulación de las células que liberan citocinas, como TGFβ, IL-4 e IL-10, y suprimen las respuestas indeseables. En consecuencia, la aplicación de antígenos debería inducir la tolerancia de células Th1, lo que se demostró que es una estrategia exitosa para el bloqueo de la EAE, el modelo de artritis por colágeno II y el desarrollo de diabetes en ratones DNO. Por lo tanto, a los pacientes con EM se les administra MBP, y a los que presentan AR, colágeno de pollo tipo II.

El tolerógeno también se puede administrar por inhalación de péptido en aerosol (fig. 20-23), y podría ser una forma muy atractiva de generar supresión de células T específicas de antígeno en muchos estados de hipersensibilidad. La inducción de anergia o de supresión activa puede contribuir en distinto grado. Se usaron con éxito los péptidos intranasales para bloquear atritis inducida por colágeno, EAE, diabetes espontánea (DNO) y un modelo murino de alergia al antígeno Der P1 de ácaros del polvo ambiental. Es significativo que el tratamiento puede ser efectivo incluso *después* de la inducción de la enfermedad (fig. 20-23), aunque en la patología humana establecida puede ser difícil de lograr y en ocasiones se requiere terapéutica complementaria, por ejemplo, con anti-CD4, y la reducción preliminar de las células T programadas con ciclosporinas o esteroides. No son pocas las cuerdas que se pueden tirar.

Lo que sigue es realmente importante. Un solo epítopo interno de MBP puede inhibir la enfermedad inducida por *mezcla* de epítopos o antígenos contenidos dentro de la mielina entera. En otras partes, un solo epítopo puede inducir la supresión de las células T patógenas específicas para otros epítopos en la misma molécula, u otras, siempre que se generen dentro del mismo órgano o la misma ubicación. Ya se describió esto como **tolerancia adicional relacionada con el órgano**, un fenómeno mejor entendido en términos de las interacciones sobre la misma célula presentadora de antígeno entre la célula reguladora, sea Th2 o anérgica, que reconoce el epítopo supresor y la célula Th1 patógena que reconoce un **epítopo separado** procesado a partir de la misma molécula o de otra del mismo órgano (fig. 20-24).

Otro enfoque que puede ser valioso para el futuro es la "desactivación" de células B programadas por la presentación de hapteno vinculado con un portador independiente del timo similar al copolímero de ácido D-glutámico y D-lisina (D-GL), o IgG de la misma especie, en particular cuando se administran dosis elevadas de cortisona. Esto sin duda funcionó bien en ratones híbridos NZB×W, en los que se disminuyeron los niveles de anti-DNA por medio del uso de nucleósidos como los haptenos; habrá que ver si los seres humanos y los ratones son en realidad tan diferentes.

Otra forma de manipular el antígeno es su extracción. Para el DNA del nucleosoma se puede lograr mediante la inyección de DNAsa, y, como se esperaba, el tratamiento con DNAsa I suprimió las manifestaciones de nefritis lúpica en el modelo NZB×W. Por último, para volver al tema central, varios grupos intentan evolucionar una estrategia basada en la "bala mágica", cuya esencia es el diseño de distintos tipos de armas citotóxicas mediante el acople de toxinas bacterianas o cantidades de radiactividad al antígeno que se localizan de manera selectiva sobre los linfocitos portadores de receptores de superficie específicos. Es de esperar que de todo esto se obtenga algo valioso.

Plasmaféresis

El recambio de plasma para disminuir la tasa de depósito de complejos inmunes en LES sólo proporciona beneficios temporarios, si bien puede tener valor en los casos de arteritis que ponen en peligro la vida. Se obtuvieron buenos resultados en el síndrome de Goodpasture, cuando se aplica el tratamiento en combinación con fármacos antimitóticos (fig. 20-25), con el fundamento de una mayor tendencia a la división por parte de las células reactivas ante el antígeno, a medida que el efecto retroactivo de la IgG disminuye tras la extracción de las proteínas plasmáticas.

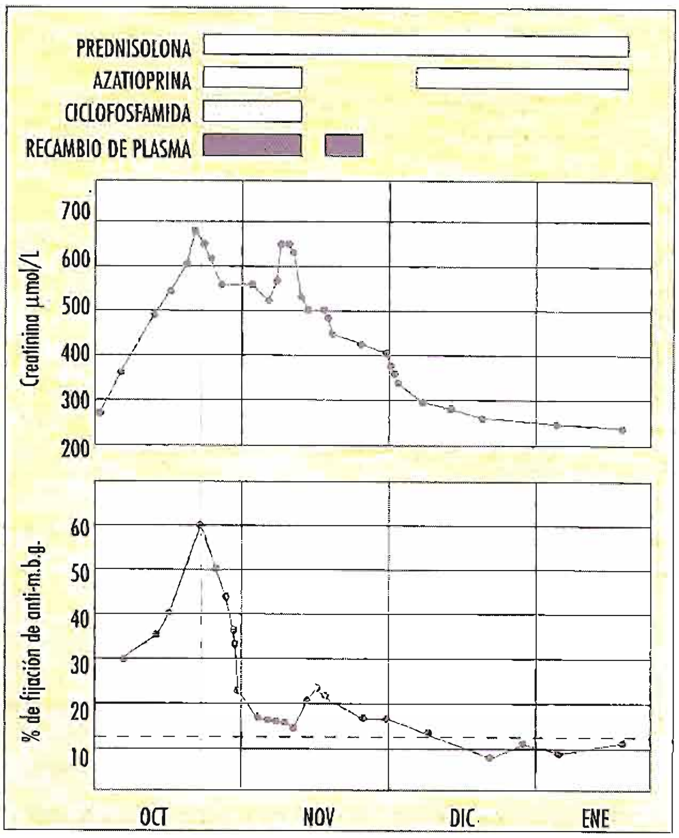


Fig. 20-25. Tratamiento de un paciente con nefritis inducida por anticuerpo antimembrana basal glomerular (antim.b.g.), con reemplazo de plasma, corticoides y fármacos inmunosupresores. Aquí, la función renal es controlada por el nivel de creatinina sérica. El tratamiento induce la pérdida de autoanticuerpo (la línea de puntos representa la cantidad de antígeno m.b.g. unido en la prueba a suero normal) y el restablecimiento de la función renal. (Cortesía del doctor C.M. Lockwood.)

RESUMEN

Efectos patógenos de los autoanticuerpos humorales

- Los efectos patógenos directos de los autoanticuerpos del ser humano contra los receptores sanguíneos, de superficie y de varios otros tejidos se presentan en el cuadro 20-2.
- La transferencia pasiva de la patología se observa en "experimentos de naturaleza", en los que el pasaje transplacentario de autoanticuerpo IgG materno produce un trastorno comparable, pero transitorio, en el feto y el recién nacido.
- La enfermedad también puede mimetizarse en animales de experimentación por medio de la transferencia pasiva de autoanticuerpos monoclonales.

Efectos patógenos de los complejos con autoantígenos

- Los complejos inmunes, por lo general unidos a complemento, aparecen en los riñones, la piel y las articulaciones de los pacientes con LES, asociados con lesiones en el órgano correspondiente.
- La formación de anticuerpos IgG mutados de gran afinidad contra los antígenos agrupados en la anatomía (p. ej., componentes del nucleosoma) prueban el control de las células T y la selección de antígeno de la respuesta de anticuerpos. Estos grupos de antígenos pueden aparecer como ampollas sobre la superficie de las células apoptósicas.

Cuadro 20-2. *Efectos patógenos directos de los anticuerpos humorales*

ENFERMEDAD	ANTICUERPO	LESIÓN
Anemia hemolítica autoinmune	Eritrocitos	Destrucción de eritrocitos
Linfopenia (algunos casos)	Linfocitos	Destrucción de linfocitos
Púrpura trombocitopénica idiopática	Plaquetas	Destrucción de plaquetas
Síndrome antifosfolipídico	Complejo cardiolipina/β_2-glucoproteína 1	Fenómenos tromboembólicos recurrentes
Infertilidad masculina (algunos casos)	Espermatozoides	Aglutinación de espermatozoides
Anemia perniciosa	ATPasa H^+/K^+, receptor de gastrina	Bloqueo de producción de ácido
Enfermedad de Hashimoto	Antígeno de superficie de peroxidasa tiroidea	Efecto citotóxico sobre células tiroides cultivadas
Mixedema primario	Receptor para TSH	Bloqueo de célula tiroidea
Enfermedad de Graves	Receptor para TSH	Estimulación de célula tiroidea
Síndrome de Goodpasture	Membrana basal glomerular	Daño mediado por complemento de la membrana basal
Miastenia gravis	Receptor para acetilcolina	Bloqueo y destrucción de receptores
Síndrome de Lambert-Eaton	Canal del Ca presináptico	Defecto neuromuscular
Acantosis nigricans (tipo B) y ataxia telangiectasia con resistencia insulínica	Receptor para insulina	Bloqueo de receptores
Alergia atópica (algunos casos)	Receptores β-adrenérgicos	Bloqueo de receptores
Bloqueo cardíaco congénito	Ro/SS-A	Distorsión de potencial de acción de membrana cardíaca fetal
Enfermedad celíaca	Endomisio	Inflamación de intestino delgado

- Se observó lupus espontáneo en ciertas cepas animales puras, y se demostró la importancia de la autoinmunidad para la patogenia por medio de la atenuación de los síntomas siempre que se suprima la respuesta inmune.
- La IgG en la AR muestra una galactosilación defectuosa de los azúcares Fc.
- La mayoría de los pacientes con AR produce autoanticuerpos contra IgG (factores reumatoideos) como consecuencia de la hiperreactividad inmunitaria en las capas más profundas de la membrana sinovial. Los factores reumatoideos IgG se autoasocian para formar complejos.
- Esto origina la inflamación aguda en el espacio articular y estimula el crecimiento de las células de revestimiento sinovial como **pannus**, que **produce erosiones en el cartílago y el hueso subyacentes**, mediante la liberación de IL-1, IL-6, TNF, prostaglandina E_2, colagenasa, proteasa neutra e intermediarios reactivos de oxígeno.

Hipersensibilidad mediada por células T como factor patógeno

- La supresión de la patología por tratamiento con ciclosporina o anti-CD4 es una evidencia firme de compromiso de las células T. Lo mismo ocurre con un factor de riesgo vinculado con HLA.
- Hay un punto de vista prevalente respecto de que las lesiones inflamatorias específicas de órgano son causadas por células Th1 patógenas autorreactivas.
- Las células T activadas son abundantes en el sinovio reumatoideo, y su producción de TNF y

GM-CSF complementa el estímulo de complejo inmune para la formación de pannus.

- Los pacientes con AR presentan escasas respuestas a los corticosteroides cuando se desencadena el circuito de retroalimentación hipofisario-suprarrenal, y es beneficioso el tratamiento con dosis bajas de corticoides, casi las de mantenimiento.
- Los tirocitos que expresan CMH clase II en la enfermedad tiroidea autoinmune son blancos directos para las células Th1 con activación local específicas para peroxidasa tiroidea.
- Se demostró además que la autoinmunidad puede causar tiroiditis por medio de la inducción deliberada de la enfermedad en roedores, mediante la inmunización con antígenos tiroideos en coadyuvante completo de Freund.
- El inicio de DMID es retrasado por la ciclosporina, se destacan los factores de riesgo HLA-DQ, y las respuestas proliferativas de las células T contra los antígenos de las células de los islotes β reflejan el pronóstico de la enfermedad.
- Las células Th1 provenientes de ratones DNO enfermos, que mimetizan el trastorno humano en la histopatología y la autoinmunidad, pueden producir lesiones pancreáticas típicas en ratones jóvenes de la misma cepa. La introducción de un transgén codificador de cambios en los residuos 56 o 57 de la cadena H-2β atenúa en grado notable la enfermedad.
- Debido a la similitud con la encefalomielitis alérgica experimental, una enfermedad desmielinizante inducida por la inmunización con mielina en coadyuvante completo de Freund, la autoinmunidad es la hipótesis principal en la EM. Alrededor de la tercera parte de las células T activables por IL-2 o IL-4 en las células de LCR de pacientes con EM son específicas para mielina, y el fenotipo DR2 es un fuerte factor de riesgo.

Algunos trastornos sistémicos con un componente vascular de patogenia desconocida

- Las lesiones vasculares mediadas por reacciones inmunitarias tienen importancia central en granulomatosis de Wegener, arteritis temporal, esclerodermia y aterosclerosis.

Valor diagnóstico de las pruebas con autoanticuerpos

- En la actualidad, un amplio espectro de autoanticuerpos séricos proporciona valiosos marcadores diagnósticos.
- Se efectúan determinaciones inmunofluorescentes de rutina sobre cortes compuestos de tiroides y estómago de ser humano, y riñón e hígado murinos, complementados por pruebas de aglutinación para factores reumatoideos, anticuerpos tiroideos y antieritrocitarios, y por radioinmunoensayos para anticuerpos contra factor intrínseco y receptor de acetilcolina.
- Las pruebas de ELISA de fase sólida se utilizan para anticuerpos contra DNA y otros antígenos nucleares, y se espera un desplazamiento creciente de la fluorescencia a medida que se disponga de autoantígenos purificados.

Tratamiento de trastornos autoinmunes

- La terapéutica convencional incluye el control metabólico y el uso de fármacos antiinflamatorios e inmunosupresores.
- Una amplia variedad de posibles terapéuticas de control inmune se somete a investigación intensa; entre ellas se incluyen las manipulaciones de anticuerpos y de idiotipos de células T, e intentos tendientes a inducir la falta de respuesta específica de antígeno, sobre todo contra células T, que utilizan péptidos administrados por vías parenteral, oral o nasal.
- La tolerancia adicional relacionada con el órgano implica que epítopos aislados pueden inducir la supresión de células patógenas dentro de un órgano que reacciona con otros epítopos sobre el mismo antígeno u otros.
- El recambio de plasma puede tener valor, sobre todo en combinación con fármacos antimitóticos.
- La comparación acompañante de trastornos autoinmunes específicos y no específicos de órgano (cuadro 20-3) brinda una visión general de muchos de los puntos presentados en los últimos dos capítulos.

Véanse preguntas de opciones múltiples en el sitio web correspondiente (www.roitt.com).

Cuadro 20-3. *Comparación de patologías específicas y no específicas de órgano*

ESPECÍFICAS DE ÓRGANOS (p. ej, TIROIDITIS, GASTRITIS, SUPRARRENALITIS)	NO ESPECÍFICAS DE ÓRGANOS (p. ej., LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO)
DIFERENCIAS	
Los antígenos sólo están disponibles para el sistema linfático en bajas concentraciones	Antígenos accesibles a mayores concentraciones
Los anticuerpos y las lesiones son específicos de órgano	Anticuerpos y lesiones no específicos de órgano
Superposición clínica y serológica; tiroiditis, gastritis y adrenalitis	Superposición de LES, artritis reumatoidea y otros trastornos de tejido conectivo
Tendencia familiar a autoinmunidad específica de órgano	Enfermedad familiar de tejido conectivo
Invasión linfática, destrucción del parénquima por hipersensibilidad celular o anticuerpos	Lesiones debidas en gran parte al depósito de complejos antígeno-anticuerpo, pero también puede haber componente Th1, como en AR
Terapéutica dirigida a controlar la eficiencia metabólica o inducir tolerancia de las células T	Terapéutica dirigida a inhibir la inflamación y la síntesis de anticuerpos
Tendencia a cáncer en el órgano	Tendencia a neoplasia linforreticular
Los antígenos evocan anticuerpos específicos de órgano en animales normales con coadyuvante completo de Freund	No se producen anticuerpos en animales con estimulación comparable
Lesiones experimentales producidas por antígeno en coadyuvante de Freund, pero también hay modelos de enfermedad espontánea	Las patologías y los autoanticuerpos surgen de manera espontánea en ciertos animales (p. ej., ratones y híbridos NZB)
SIMILITUDES	
Los autoanticuerpos circulantes reaccionan con constituyentes normales del organismo A menudo los pacientes presentan aumento de las inmunoglobulinas séricas Los anticuerpos pueden aparecer en cada una de las clases principales de inmunoglobulinas, en particular IgG, y suelen ser de gran afinidad y con mutaciones Mayor incidencia en mujeres El proceso patológico no siempre es progresivo; hay exacerbaciones y remisiones Asociación con HLA Enfermedades espontáneas en animales programados genéticamente Pruebas de autoanticuerpos con valor diagnóstico	

Marcadores CD

www.el12cirujano.blogspot.com

Marcadores CD (cúmulos de diferenciación) sobre células hematopoyéticas.

CD	*Identidad*	*Función*	*Distribución celular*	*Ligandos*
Cd1a	Molécula no CMH, similar a clase I	Presentación de antígenos lipídicos y glucolipídicos	Timocito, DC, LC, B (sub)	Antígenos lipídicos y glucolipídicos TCR αβ
CD1b	Molécula no CMH, similar a clase I	Presentación de antígenos lipídicos y glucolipídicos	Timocito, DC, LC B (sub)	Antígenos lipídicos y glucolipídicos TCR αβ
CD1c	Molécula no CMH, similar a clase I	Presentación de antígenos lipídicos y glucolipídicos	Timocito, DC, LC, B (sub)	Antígenos lipídicos y glucolipídicos TCR αβ
CD1d	Molécula no CMH, similar a clase I	Presentación de antígenos lipídicos y glucolipídicos	Leucocitos, epitelio	Antígenos lipídicos y glucolipídicos TCR αβ
CD1e	Molécula no CMH, similar a clase I	Presentación de antígenos lipídicos y glucolipídicos	Desconocida	Antígenos lipídicos y glucolipídicos TCR αβ
CD2	LFA-2, T11	Adhesión de células T a células blanco o APC. Activación de células T. Regulación de citólisis.	Timocito, T, NK	CD58 (LFA-3), CD59, CD48, CD15
CD3δ	Molécula asociada con TCR	Activación de células T	Timocito, T	–
CD3ε	Molécula asociada con TCR	Activación de células T	Timocito, T	–
CD3γ	Molécula asociada con TCR	Activación de células T	Timocito, T	–
CD4	T4, L3T4	Correceptor de activación de células T inducida por antígeno restringido a CMH clase II	Timocito (sub), T (sub), Mo, Mϕ	CMH clase II, HIV gp120
CD5	Leu-1, Ly-1	Modula señales a través de TCR y BCR	Timocito, T, B (sub)	CD72
CD6	T12	Activación de células T e interacción de células de la estroma	Timocito, T, B (sub)	CD166 (ALCAM)
CD7	Tp41	Regulación de producción de citocinas y sensibilidad a síndromes de shock inducido por LPS	SC, Timocito, T, NK	Desconocidos

(*cont.*)

Marcadores CD (*continuación*)

CD	*Identidad*	*Función*	*Distribución celular*	*Ligandos*
CD8α	T8, Lyt2/3	Correceptor de activación de células T inducida por antígeno restringido a CMH clase I	Timocito (sub), T (sub)	CMH clase I
CD8β	T8, Lyt2/3	Correceptor de activación de células T inducida por antígeno restringido a CMH clase I	Timocito (sub), T (sub)	CMH clase I
CD9	DRAP27	Activación y agregación plaquetarias	Pre-B, Plt, *B, *T, eosinófilos, basófilos, endotelio, epitelio	Desconocidos
CD10	CALLA, NEP	Endopeptidasa neutra	MO	Desconocidos
CD11a	Cadena α de LFA-1, cadena α_L de integrinas	Interacciones entre leucocitos y entre éstos y el endotelio. Coestimulación	Todos los leucocitos	CD54 (ICAM-1), CD102 (ICAM-2). CD50 (ICAM-3), CD242 (ICAM-4)
CD11b	Cadena α de MAC-1, cadena α_M de integrinas, CR3	Adhesión al endotelio vascular. Receptor para el complemento	NK, Gr, Mo, T (sub), B (sub)	CD54 (ICAM-1), CD102 (ICAM-2), CD242 (ICAM-4), iC3b C3dg, C3d, fibrinógeno
CD11c	Cadena α_X de integrinas, CR3	Adhesión al endotelio vascular. Receptor para el complemento	NK, Gr, Mo, Mϕ	iC3b, C3dg, fibrinógeno
CDw12	Fosfoproteína p90-120	Desconocida	Mo, Gr, NK	Desconocidos
CD13	Aminopeptidasa N	Péptidos trims unidos a CMH clase II	Mo, Gr, endotelio	Desconocidos
CD14	Receptor para LPS	Fija LPS, en particular en presencia de proteína fijadora de LPS (LBP). Activación celular	Mo, Mϕ, Gr	LPS (endotoxina)
CD15	Lewis^X, 3-FAL, SSEA-1	Adhesión	Neutrófilos, Mo, Plt	CD2
CD15s	Sialil Lewis^X	Adhesión	Neutrófilos, Mo, Plt	CD62E, CD62L, CD62P
CD15u	CD15 sulfatado	Adhesión	Neutrófilos, Mo, Plt	CD62P
CD16a	FcγRIIIA	Fagocitosis y CCDA	Gr, NK, Mϕ, DC, B	Fcγ
CD16b	FcγRIIIB	Fagocitosis y CCDA	Neutrófilos	Fcγ
CDw17	Lactosilceramida	Desconocida	Mo, Gr, basófilos, Plt, B (sub)	Desconocido
CD18	Cadena β de CD11, cadena β_2 de integrinas	Adhesión y señalización	Todos los leucocitos	Véase CD11a, b, c
CD19	B4	Componente del complejo de transducción de señal CD19/CD21/CD81/CD225 Activación y proliferación de células B	B, FDC	Desconocido

(*cont.*)

Marcadores CD (*continuación*)

CD	*Identidad*	*Función*	*Distribución celular*	*Ligandos*
CD20	B1, Bp35	Activación y proliferación de células B	B	Desconocido
CD21	CR2, EBV-R, C3dR	Receptor para el complemento. Componente del complejo de transducción de señal CD19/CD21/CD81/CD225. Activación y proliferación de células B	B, FDC	iC3B, C3d, C3dg, CD23, EBV
CD22	BL-CAM	Adhesión y señalización de células B	B (mat)	Sialilproteínas, CD45
CD23	FcεRII, receptor para IgE con baja afinidad	Regulación de la producción de IgE. Adhesión y señalización	B, Mo, FDC	Fcε, CD21
CD24	HSA, BA-1	Desconocida	B, Gr (mat)	CD62P
CD25	Cadena α de IL-2R	Receptor de citocinas	*T, *B, *Mo, *Mϕ	IL-2
CD26	DPPIV	Endopeptidasa. Coestimulación para la activación de células T	*T, B, Mϕ, NK, timocitos	Desconocido
CD27	S152, T14	Señal de coestimulación para activación de células T y B	Timocitos, T, B (sub), NK	CD70
CD28	T44	Molécula coestimuladora	Timocitos, T, *B	CD80, CD86
CD29	Cadena β de VLA	Adhesión	Leucocitos, Plt, eritrocitos	Véase CD49a-f y CD51.CD171 (en ratón)
CD30	Ber-H2	Coestimulador de células T	*T, *B, *NK, Mo	CD153
CD31	PECAM-1	Migración transendotelial de leucocitos	Mo, Plt, neutrófilos, NK, endotelio, T (sub)	CD31 (homofílico), CD51/CD61 (integrina $\alpha_V\beta_3$), CD38
CD32	FcγRII	Fagocitosis y ADCC	B, Mϕ, Gr, Mo, FDC, NK	Fcγ
CD33	gp67	Adhesión	Mo, Mϕ, mastocitos	Ácido siálico en sialoglucoconjugados
CD34	gp105-120	Adhesión	SC, células progenitoras Linfohematopoyéticas tempranas, endotelio	CD62L
CD35	CR1, C3b/C4bR	Receptor para el complemento. Acelera la degradación de C3 y C5 convertasas. Facilita la fagocitosis	Eritrocitos, neutrófilos, Mo, B, T(sub), eosinófilos, FDC	C3b, C4b, iC3b
CD36	GPIIIb, MFGM, PASIV	Adhesión. Receptor de recolectores de detritos. Fagocitosis de células apoptósicas	Endotelio, Plt, Mo, Mϕ, eritrocitos	Trombospondina, colágeno, LDL oxidado, ácidos grasos de cadena larga, fosfolípidos aniónicos
CD37	gp52-40	Transducción de señales	B, T, neutrófilos, Mo	Desconocido

(*cont.*)

Marcadores CD (*continuación*)

CD	*Identidad*	*Función*	*Distribución celular*	*Ligandos*
CD38	T10	Como CD157, tiene actividad ADP-ribosilciclasa / ADP cíclico ribosahidrolasa. Modula la activación celular. Adhesión	Mayoría de leucocitos	CD31, ácido hialurónico
CD39	gp80	Adhesión	B (sub), *NK (sub), *T (sub)	CD39 (homotípico)
CD40	Bp50	Activación, proliferación y diferenciación de células B	B, Mϕ, DC, FDC, endotelio	CD154
CD41	Cadena αIIb de integrinas	Agregación plaquetaria	Plt, megacariocitos	VWF, fibrinógeno, fibronectina
CD42a	GP IX	Adherencia y agregación plaquetaria en sitios de lesión vascular	Plt, megacariocitos	–
CD42b	GP Ibα	Adherencia y agregación plaquetaria en sitios de lesión vascular	Plt, megacariocitos	VWF, trombina
CD42c	GP Ibβ	Adherencia y agregación plaquetaria en sitios de lesión vascular	Plt, megacariocitos	–
CD42d	GPV	Adherencia y agregación plaquetaria en sitios de lesión vascular	Plt, megacariocitos	–
CD43	Leucosialina, gp115	Antiadhesión y proadhesión. Activación celular	Mayoría de leucocitos	Desconocido
CD44	HERMES, Pgp-1, H-CAM	Fijación y rotación de leucocitos sobre el endotelio. Guía en órganos linfoides periféricos y sitios de inflamación. Activación de células T	Amplia difusión	Hialuronano, osteopontina, anquirina, fibronectina
CD44R	Isoforma variante de CD44	Fijación y rotación de leucocitos sobre el endotelio. Guía en órganos linfoides periféricos y sitios de inflamación	Mo, *T, *B, epitelio	Hialuronano, osteopontina, anquirina, fibronectina
CD45	Antígeno común leucocitario (LCA), B220	Señalización de linfocitos	Todos los leucocitos	Galectina-1, CD22
CD45RA	LCA restringido	Señalización de linfocitos	Timocitos, T (sub), B, Gr (sub) Mo, NK	Galectina-1, CD22
CD45RB	LCA restringido	Señalización de linfocitos	Timocitos, T (sub), B, Gr, Mo, NK	Galectina-1, CD22
CD45RC	LCA restringido	Señalización de linfocitos	Timocitos, NK, T (sub), B	Galectina-1, CD22
CD45RO	LCA restringido	Señalización de linfocitos	Timocitos, T (sub), Gr, Mo, Dc	Galectina-1, CD22

(*cont.*)

Marcadores CD (*continuación*)

CD	*Identidad*	*Función*	*Distribución celular*	*Ligandos*
CD46	Proteína cofactor de membrana (MCP)	Limita la formación y la función de C3 convertasas	Amplia difusión	Proteasa factor 1 sérica, C3b, C4b
CD47	Proteína asociada a integrina (IAP)	Adhesión. Receptor para trombospondina	Amplia difusión	Trombospondina, CD172a
CD47R	MEM133, CDw149	Adhesión. Receptor para trombospondina	T, B, Mo	Trombospondina
CD48	Blast-1, OX-45, BCM1	Adhesión de células T a células blanco y APC	Leucocitos (salvo neutrófilos)	CD2
CD49a	Cadena α de VLA-1, cadena α_1 de integrinas	Receptor de laminina y colágeno	Fibroblastos, endotelio capilar, NK, *T	Laminina, colágeno I y IV
CD49b	Cadena α de VLA-2, cadena α_2 de integrinas	Regula la expresión de MMP-1 y colágeno tipo 1	Fibroblastos, endotelio, Plt, B, T, queratinocitos	Colágeno I-IV, laminina
CD49c	Cadena α de VLA-3, cadena α_3 de integrinas	Adhesión	Fibroblastos, queratinocitos, epitelio, B	Fibronectina, colágeno
CD49d	Cadena α de VLA-4, cadena α_4 de integrinas	Rotación, adhesión y migración de leucocitos	Amplia difusión	CD106 (VCAM-1), fibronectina
CD49e	Cadena α de VLA-5, cadena α_5 de integrinas	Adhesión, migración y ensamblado de matriz celulares	Fibroblastos, epitelio, endotelio, músculo, Plt	Fibronectina, CD171 (en ratón)
CD49f	Cadena α de VLA-6, cadena α_6 de integrinas	Adhesión, dispersión y migración celulares	Amplia difusión	Laminina
CD50	ICAM-3	Molécula coestimuladora	Leucocitos, LC, endotelio	$\alpha_d\beta_2$ integrina, CD11a/CD18 (LFA-1), CD209
CD51	Cadena α_v de receptor para vitronectina	Reclutamiento, distribución y retención de células por medio de la matriz extracelular	Endotelio, Mo, Plt, osteoclastos, B (sub), T	CD31, CD171, laminina, fibrinógeno, fibronectina
CD52	Campath-1	Desconocida	Timocitos, T, B, Mo, Mϕ	Desconocido
CD53	MEM-53	Activación	Leucocitos	Desconocido
CD54	ICAM-1	Adhesión leucocitaria al endotelio en la inflamación	Endotelio, *T, *B, epitelio, Mo	CD11a/CD18 (LFA-1) CD11b/CD18 (Mac-1) CD227, rinovirus, Eritrocitos infectados por *Plasmodium falciparum*
CD55	Factor acelerador de degradación (DAF)	Limita la formación y la vida media de las C3 convertasas	Amplia difusión	C3 convertasas, CD97
CD56	NCAM, D2-CAM, Leu-19, NKH1	Adhesión	NK, T(sub), cerebro	CD56 (homofílico), heparansulfato
CD57	HNK-1, Leu-1	Citotoxicidad no restringida por CMH tras la activación	NK, T (sub), B(sub), Mo	Desconocido
CD58	LFA-3	Adhesión de células T a células blanco y CPA	Amplia difusión	CD2

(*cont.*)

Marcadores CD (*continuación*)

CD	*Identidad*	*Función*	*Distribución celular*	*Ligandos*
CD59	HRF20, MIRL	Inhibe la formación de complejo de ataque a membrana. Adhesión de células T a células blanco y CPA	Amplia difusión	C8, C9, CD2
CD60a	GD3	Coestimulación de células T	T (sub), Plt	Ácido siálico en sialoglucoconjugados
CD60b	9-O-acetil-GD3	Coestimulación de células T	T (sub), Plt	Ácido siálico en sialoglucoconjugados
CD60c	7-O-acetil-GD3	Coestimulación de células T	T (sub), Plt	Ácido siálico en sialoglucoconjugados
CD61	Cadena β de receptor para vitronectina, cadena β_3 de integrinas	Adhesión	Plt, megacariocitos, Mo, Mϕ, endotelio	CD31, CD171
CD62E	E-selectina, ELAM-1	Fijación y rotación de leucocitos en endotelio activado por citocinas	Endotelio	ESL-1, CD15s (sialil Lewis^X), sialil Lewis^a, CLA, CD66a, CD66c, CD162, CD227
CD62L	L-selectina, Leu-8	Fijación y rotación de linfocitos en LN HEV y leucocitos	T, B, Mo, Gr, NK. Regulado hacia abajo en la activación por endoproteólisis	CD34, MAdCAM, GluCam-1, CD15s (sialil sobre endotelio Lewis^X), sialil Lewis^a
CD62P	P-selectina, GMP-140, PADGEM	Adhesión de Plt y leucocitos al endotelio	Plt y endotelio activados por trombina/histamina. Almacenado en gránulos antes de la activación	CD162, CD24, CD15s Lewis^X), sialil Lewis^a
CD63	LIMP, ME491	Desconocida	*Plt, *endotelio	Desconocido
CD64	FcγRI	Fagocitosis y CCDA	Mo, Mϕ, DC	Fcγ
CD65	VIM-8, VIM-11 dodecasacárido 4c ceramida asialilado	Desconocida	Gr	Desconocido
CD65s	VIM-2, dodecasacárido 4c ceramida asialilado	Desconocida	Mo, Gr	Desconocido
CD66a	NCA-160, BGP (glucoproteína biliar)	Adhesión, activación de neutrófilos	Gr, epitelio	CD62E, CD66a (homofílico), c, e
CD66b	NCA-95, CD67	Adhesión, activación de neutrófilos	Gr	CD66c
CD66c	NCA-50/90	Adhesión, activación de neutrófilos	Gr, epitelio	CD62E, CD66a, b, c (homofílico), e
CD66d	CGM1	Activación de neutrófilos	Gr	Desconocido
CD66e	Antígeno carcinoembrionario (CEA)	Adhesión	Epitelio	CD66a, c, e (homofílico)

(*cont.*)

Marcadores CD *(continuación)*

CD	*Identidad*	*Función*	*Distribución celular*	*Ligandos*
CD66f	SP1, glucoproteína específica del embarazo (PSG)	¿Mantenimiento del embarazo?	Sincitiotrofoblastos de la placenta	Desconocido
CD68	Microsialina	Desconocida	Mo, Mϕ, DC, neutrófilos, basófilos, mastocitos, *T, B (sub)	LDL oxidada
CD69	AIM, Leu-23	Activación, transducción de señales	*T, *B, *NK, *neutrófilos, *eosinófilos	Desconocido
CD70	Ki-24	Desconocida	*T (sub), *B (sub)	CD27
CD71	Receptor de transferrina	Captación de hierro	*T, *B, *NK, *Mo, *Mϕ, SC	Transferrina
CD72	Lyb-2	Activación y proliferación de células B	B	CD5, CD100
CD73	Ecto-5'-nucleotidasa	Desconocida	T (sub), B (sub), FDC, endotelio, epitelio	Monofosfato de adenosina
CD74	Cadena invariable	Clasificación intracelular de moléculas CMH clase II	B, Mϕ, *T, *endotelio, *epitelio	CMH clase II
CD75	Epítopos de lactosamina no sialilados/enmascarados	Desconocida	B, T (sub), eritrocitos	Desconocido
CD75s	Lactosaminas α-2,6-sialiladas, CDw76	Desconocida	B (sub), T (sub), endotelio, epitelio, eritrocitos	Desconocido
CD77	BLA, globotriaosilceramida	Desconocida	Centro germinativo B	Toxina shiga, verotoxina-1
CD79a	Igα, mb1	Transducción de señal como parte del receptor de células B	B	–
CD79b	Igβ, B29	Transducción de señal como parte del receptor de células B	B	–
CD80	B7.1, BB1	Regula la activación de células T	*B, *T, Mϕ, DC	CD28, CD152
CD81	TAPA-1	Componente del complejo de transducción de señales CD19/CD21/CD81/CD225	Leucocitos (salvo neutrófilos) endotelio, epitelio	–
CD82	R2, IA4	Transducción de señales	Leucocitos	Desconocido
CD83	HB15	Desconocida	DC, LC	Desconocido
CD84	2G7	¿Señalización?	Mo, Mϕ, Plt, B, T (sub), timocitos	Desconocido
CD85	Familia ILT/LIR	Inhibición/activación de citotoxicidad	B, T (sub), NK (sub), Mo, Mϕ, DC, Gr	HLA-G, algunos alelos HLA-A y HLA-B

(cont.)

Marcadores CD (*continuación*)

CD	*Identidad*	*Función*	*Distribución celular*	*Ligandos*
CD86	B7.2	Regula la activación de células T	B, Mo, DC, LC	CD28, CD152
CD87	Receptor para el activador de plasminógeno urocinasa (uPA)	Invasión de células inflamatorias	Mo, Mϕ, *T, endotelio, NK, neutrófilos	Vitronectina, uPA
CD88	Receptor C5a	Receptor para el complemento	Gr, Mo, DC	C5a
CD89	FcαR	Induce fagocitosis, desgranulación y estallido respiratorio	Gr, Mo, Mϕ, eosinófilos	IgA1, IgA2
CD90	Thy-1	Activación de células T	Timocitos, T (ratón), SC, HEV	Desconocido
CD91	Receptor para α_2-macroglobulina, proteína relacionada con LDLR	Receptor	Mo, Mϕ	α_2-macroglobulina
CD92	VIM15	Desconocida	Gr, Mo	Desconocido
CD93	p120	Desconocida	Mo, Gr, endotelio	Desconocido
CD94	kp43	Inhibición/activación de citotoxicidad	T (sub), NK	Algunas moléculas HLA clase I
CD95	Fas, APO-1	Transduce una señal apoptósica	Amplia difusión	CD178 (Fas-L)
CD96	Táctil	¿Adhesión?	*T, *NK	Desconocido
CD97	BL-KDD/F12	Desconocida	Gr, Mo, Mϕ, DC, *T, *B	CD55
CD98	4F2	Activación celular	Amplia difusión	Desconocido
CD99	E2, MIC2	Desconocida	Timocitos, T, B, eritrocitos	Desconocido
CD100	SEMA4D	Proliferación de linfocitos	Todos los leucocitos	CD72
CD101	p126	Coestimulación	Gr, Mo, Mϕ, DC, T	Desconocido
CD102	ICAM-2	Recirculación y tráfico de linfocitos. Coestimulación	Endotelio, neutrófilos, linfocitos, Mo, Plt	CD11a/CD18 (LFA-1)
CD103	Cadena α_E de integrinas, HML-1	Adhesión de linfocitos de las mucosas al epitelio	Mayoría de T intraepiteliales y un 50% de linfocitos de la lámina propia. Ausente en PBL.	E-cadherina
CD104	Cadena β_4 de integrinas	Molécula de adhesión a cadena α_6 de integrinas	Epitelio	Laminina, epiligrina
CD105	Endoglina	Componente regulador de del receptor para TGFβ	*Mo, Mϕ, endotelio	TGFβ
CD106	VCAM-1	Migración y reclutamiento de leucocitos a los sitios de inflamación	Mϕ, DC, FDC, células de la estroma de MO, endotelio	CD49d/CD29 (VLA4), $\alpha_4\beta_7$ integrina

(*cont.*)

Marcadores CD (*continuación*)

CD	*Identidad*	*Función*	*Distribución celular*	*Ligandos*
CD107a	LAMP-1	Desconocida	*Plt, *T, *endotelio, *neutrófilos	Desconocido
CD107b	LAMP-2	Desconocida	*Plt, *endotelio, *neutrófilos	Desconocido
CD108	Antígeno de grupo sanguíneo JMH	Adhesión	T, B, eritrocitos	Desconocido
CD109	Sialomucina	Desconocida	Endotelio, células del estroma, Plt, *T	Desconocido
CD110	MPL	Receptor para trombopoyetina	Plt, megacariocitos	Trombopoyetina
CD111	PRR1/Nectina 1	Adhesión	Amplia difusión	Virus herpes simple, CD111 (homotípico)
CD112	PRR2/Nectina 2	Adhesión	Amplia difusión	Virus herpes simple, CD112 (homotípico)
CD114	Receptor G-CSF	Receptor para el factor de crecimiento	Gr, Mo, Plt, endotelio	G-CSF
CD115	Receptor CSF-1	Receptor para el factor de crecimiento	Mo, Mϕ	M-CSF
CD116	Cadena α de receptor GM-CSF	Receptor para el factor de crecimiento	Mo, Mϕ, neutrófilos, eosinófilos, DC	GM-CSF
CD117	Receptor para el factor de células madre (SCF), *c-kit*	Receptor para el factor de crecimiento	SC, progenitoras hematopoyéticas, mastocitos	SCF
CDw119	Receptor para IFNγ	Receptor para citocinas	Mo, Gr	IFNγ
CDD120a	Receptor para TNF tipo II, p55	Receptor para citocinas	Amplia difusión	TNF (TNFα), linfotoxina (TNFβ)
CD120b	Receptor para TNF tipo II, p75	Receptor para citocinas	Amplia difusión	TNF (TNFα), linfotoxina (TNFβ)
CD121a	IL-1 RI	Receptor para citocinas	Timocitos, fibroblastos, endotelio	IL-1α,β,ra
CD121b	IL-1 RII	Receptor para citocinas	B, T, Mo, Mϕ	IL-1α,β,ra
CD122	Cadena β de receptor para IL-2 e IL-15	Receptor para citocinas	T, B, Mo, Mϕ, NK	IL-2, IL-15
CD123	Cadena α de receptor para IL-3	Receptor para citocinas	Precursores hematopoyéticos	IL-3
CD124	Cadena α de receptor para IL-4 e IL-13	Receptor para citocinas	T, B, precursores hematopoyéticos, fibroblastos	IL-4, IL-13
CDw125	Cadena α de receptor para IL-5	Receptor para citocinas	Eosinófilos, basófilos, *B	IL-5
CD126	Cadena α de receptor para IL-6	Receptor para citocinas	*B, células plasmáticas, T, Mo, epitelio, fibroblastos células neurales	IL-6

(*cont.*)

Marcadores CD *(continuación)*

CD	*Identidad*	*Función*	*Distribución celular*	*Ligandos*
CD127	Cadena α de receptor para IL-7	Receptor para citocinas	Timocitos inmaduros, hepatocitos, Pre-B, T (mat)	IL-7
CDw128a	Cadena α de receptor para IL-8, CxCR1	Receptor para quimiocinas	Gr, T (sub), Mo, endotelio	CXCL8 (IL-8), CXCL6 (GCP-2)
CDw128b	Cadena β de receptor para IL-8, CXCR2	Receptor para quimiocinas	Gr, T (sub), Mo, endotelio	CXCL8 (IL-8), CXCL1 (GROα), CXCL2 (GROβ), CXCL3 (GROγ), CXCL5 (ENA-78), CXCL6 (GCP-2), CXCL7 (NAP-2)
CD130	Componente gp 130 de receptores para IL-6, IL-11, LIF, OSM, CNTF y CT-1	Transducción de señales	Amplia difusión	Oncostatina M (OSM) es el único ligando
CDw131	Cadena β común de receptores para IL-3, IL-5 y GM-CSF	Transducción de señales	Mo, Gr, B	No interviene en la fijación de citocinas
CD132	Cadena γ común de receptores de IL-2, IL-4, IL-7, IL-9 e IL-15	Fijación y señalización de citocinas	T, B, NK, Mo, Mφ, neutrófilos, fibroblastos	IL-2, IL-4, IL-7, IL-9 e IL-15
CD133	AC133	Desconocida	SC	Desconocido
CD134	OX40	Adhesión de *T al endotelio vascular	*T	Ligando OX40, gp34
CD135	Flt3/Flk2	Receptor para tirosin cinasa	Progenitores de mielomonocitos y B	Ligando Flt3/Flk2
CD136	Receptor MSP, RON	Receptor para tirosin cinasa	Epitelio, algunas células hematopoyéticas	Proteína estimuladora de macrófagos, HGF1
CDw137	4-1BB	Molécula coestimuladora de proliferación de células T	T	Ligando de 4-1BB
CD138	Sindecán-1	Proteoglucano de heparansulfato	B (sub)	Colágeno tipo 1
CD139	-	Desconocida	B, Mo, Gr	Desconocido
CD140a	Receptor α para PDGF	Tirosin cinasa	Endotelio, células del estroma, células mesangiales	PDGF-A
CD140b	Receptor β de PDGF	Tirosin cinasa	Endotelio, células del estroma, células mesangiales	PDGF-B
CD141	Trombomodulina	Regula la coagulación en menos	Megacariocitos, Plt, Mo neutrófilos, endotelio, queratinocitos	Trombina
CD142	Factor tisular, tromboplastina	Induce la coagulación	Mo, endotelio, epitelio, queratinocitos	Factor VIIa

(cont.)

Marcadores CD (*continuación*)

CD	*Identidad*	*Función*	*Distribución celular*	*Ligandos*
CD143	ACE, peptidildipeptidasa A	Metabolismo de angiotensina y bradicinina	Endotelio, epitelio, Mϕ	Angiotensina, bradicinina
CD144	VE-cadherina	Adhesión	Endotelio	Desconocido
CDw145	–	Desconocida	Endotelio	Desconocido
CD146	MUC18, S-endo	¿Adhesión?	Endotelio, T	Desconocido
CD147	Neurotelina, basígeno, EMMPRIN, OX-47	¿Adhesión?	Leucocitos, endotelio, eritrocitos	Desconocido
CD148	HPTP-eta, DEP-1	Tirosín fosfatasa RPTPasa tipo III	Amplia difusión	Proteínas fosforiladas de tirosina
CD150	SLAM	Señalización	T (sub), B, timocitos, DC, endotelio	Desconocido
CD151	PETA3	Desconocida	Megacariocitos, Plt, Gr, endotelio, músculo liso, epitelio	Desconocido
CD152	CTLA-4	Regulador negativo de la coestimulación de células T	*T	CD80, CD86
CD153	CD30L	Coestimulador de células T	*T, Gr, B, Mϕ	CD30
CD154	CD40L, TRAP	Coestimulador	*T, *B, NK, mastocitos	CD40
CD155	Receptor para el virus de poli	Desconocida	Mo, Mϕ, timocitos, neuronas del SNC	Virus de polio
CD156a	ADAM8	¿Extravasación de leucocitos?	Neutrófilos, Mo	Desconocido
CD156b	TACE (enzima convertidora de TNFα), ADAM17	Proteasa que libera formas solubles de TNF de las células	Amplia difusión	Desconocido
CD157	Bst-1	Como CD38, tiene actividad ADP-ribosilciclasa / ADP-ribosa hidrolasa	Mo, Mϕ, neutrófilos, endotelio, T (sub), B (sub)	NAD, ADP-ribosa cíclica
CD158	Familia KIR	Inhibición / activación de citotoxicidad	NK, T (sub)	Diversas moléculas CMH clase I
CD159a	NKG2A	Inhibición de citotoxicidad	NK, T (sub)	Péptidos derivados de secuencia señal HLA clase I presentados por HLA-E
CD160	BY55, NK1	Coestimulación	NK, T $CD8^+$	HLA-G
CD161	NKRP1A	¿Activación?	NK, T (sub)	Gangliósido GM2
CD162	BY55, PSGL-1 (ligando 1 de glucoproteína P-selectina)	Adhesión	Mo, Gr, T, B (sub)	CD62E, CD62P

(*cont.*)

Marcadores CD (*continuación*)

CD	*Identidad*	*Función*	*Distribución celular*	*Ligandos*
CD162R	PEN5, PSGL-1 (ligando 1 de glucoproteína P-selectina)	Adhesión	NK, *T	CD62P
CD163	M130	Desconocida	Mo, algunos Mϕ	Desconocido
CD164	MGC-24	Adhesión de células progenitoras hematopoyéticas a células de la estroma	Células mieloides, T, epitelio, células del estroma de MO, células progenitoras hematopoyéticas	Desconocido
CD165	AD2, gp37	Adhesión de timocitos al epitelio del timo	Plt, timocitos, linfocitos (sub), epitelio tímico, Mo, neuronas del SNC	Desconocido
CD166	ALCAM, BEN	Adhesión	T, *Mo, epitelio, fibroblastos, neuronas	CD6
CD167a	DDR1 (receptor de dominio discoide 1)	Receptor para tirosin cinasa	Células epiteliales	Colágeno
CD168	RHAMM	Migración celular	Fibroblastos	Hialuronano
CD169	Sialoadhesina, SIGLEC-1	Adhesión celular	Mϕ	Ácido siálico en sialoconjugados
CD170	SIGLEC-5	Adhesión celular	Neutrófilos	Ácido siálico
CD171	L1 (NCAM-L1)	Adhesión celular, coestimulación	T CD4$^+$, B (sub), Mo, DC, FDC, fibroblastos, neuronas	Laminina, Neurocan, Fosfocan, CD51/CD61 ($\alpha_V\beta_3$ integrina) (y CD49e/CD29$\alpha_5\beta_1$ integrina en ratón)
CD172a	PTPNS1, SHPS1, SIRPα	Adhesión	Mo, Mϕ, DC	CD47
CD173	Grupo sanguíneo H tipo 2	Componente de glucocáliz	Amplia difusión	Desconocido
CD174	Lewis^y	Adhesión	Amplia difusión	Desconocido
CD175	Tn	Hidrato de carbono tipo mucina	Epitelio. Expresión elevada en algunos tumores	Desconocido
CD175s	Sialil-Tn	Hidrato de carbono tipo mucina	Epitelio. Expresión elevada en algunos tumores	Desconocido
CD176	TF (antígeno Thomsen-Friedenreich)	Hidrato de carbono tipo mucina	Epitelio, Mϕ (sub). Expresión elevada en algunos tumores	Desconocido
CD177	NB1, HNA-2a	¿Receptor?	Gr	Desconocido
CD178	Ligando Fas	Inducción de apoptosis	*T	CD95 (Fas)
CD179a	V pre-B, cadena liviana sustituta	Diferenciación de células B	Pro-B, pre-B temprana	Desconocido
CD179b	λ5, cadena liviana sustituta	Diferenciación de células B	Pro-B, pre-B temprana	Desconocido

(cont.)

Marcadores CD (*continuación*)

CD	*Identidad*	*Función*	*Distribución celular*	*Ligandos*
CD180	RP105, Bgp95	Controla el reconocimiento y la señalización de LPS por las células B	B, Mo, DC	Desconocido
CD183	CXCR3	Receptor para quimiocina, señalización	T efectora/memoria, B (sub) NK (sub), DC (sub), eosinófilos	CXCL9 (Mig), CXCL10 (IP-10), CXCL11 (I-TAC)
CD184	CXCR4	Receptor de quimiocina, señalización	T, B, DC, Mo	CXCL12 (SDF-1α/β)
CD195	CCR5	Receptor de quimiocina, señalización	T, NK, DC, Mo	CCL3 (MIP-1α), CCL4 (MIP-1β), CCL5 (RANTES)
CDw197	CCR7	Receptor de quimiocina, señalización	B, T, DC	CCL19 (MIP3β), CCL21 (6Ccina)
CD200	OX2	Regula en menos la activación de Mϕ	Amplia difusión	OX2R
CD201	EPCR	Receptor de proteína C	Células endoteliales	Proteína C
CD202b	TEK, Tie2	Receptor de tirocin cinasa	Células endoteliales	Angiopoyetina-1
CD203c	E-NPP3, PDNP3	Enzima que interviene en la hidrólisis de nucleótidos extracelulares	Basófilos, mastocitos	Difosfatos y trifosfatos de nucleósidos
CD204	Receptor 1 del macrófago recolector de detritos	Captación de antígeno	Mϕ	Macromoléculas con carga negativa
CD205	DEC205	Captación de antígeno	DE, B, epitelio del timo	Desconocido
CD206	Receptor para manosa del macrófago	Captación de antígeno	Mϕ, células endoteliales hepáticas	Hidratos de carbono que contienen oligomanosa
CD207	Langerina	Captación de antígeno	LC, DC	Manosa
CD208	DC-LAMP (proteína de membrana asociada a lisosoma de células dendríticas)	Regulación de compartimientos de procesamiento de antígeno de CMH clase II	DC	Desconocido
CD209	DC-SIGN (no integrina captadora de ICAM-3 específica de DC)	Adhesión	DC	CD50 (ICAM-3)
CDw210	Receptor para IL-10	Receptor para citocina	T, B, NK, Mo, Mϕ	IL-10
CD212	Receptor para IL-12	Receptor para citocina	*T, *NK	IL-12
CD213a1	Receptor α1 para IL-13	Receptor para citocina	B, Mo, fibroblastos, células endoteliales	IL-13
CD213a2	Receptor α2 para IL-13	Receptor para citocina	B, Mo, fibroblastos, células endoteliales	IL-13
CDw217	Receptor para IL-17	Receptor para citocina	Amplia difusión	IL-17

(*cont.*)

Marcadores CD (*continuación*)

CD	*Identidad*	*Función*	*Distribución celular*	*Ligandos*
CD220	Receptor para insulina	Receptor para hormona	Músculo, tejido adiposo, hepatocitos	Insulina
CD221	Receptor para el factor de crecimiento similar a insulina 1 (IGF-1)	Supervivencia celular	Hueso, cartílago, músculo, tejido adiposo	IGF-1
CD222	Receptor para manosa-6-fosfato, receptor para factor II de crecimiento similar a insulina	Clasificación e internalización lisosómica	Amplia difusión	Moléculas portadoras de manosa-6-fosfato
CD223	Gen de activación de linfocitos 3 (LAG-3)	Activación de linfocitos	*T, *NK	CMH clase II
CD224	γ-glutamiltranspeptidasa (GGT)	Interviene en la captación de glutatión extracelular	T, B, hígado, riñón	Glutatión
CD225	Leu13	Componente del complejo de transducción de señal CD19/CD21/CD81/CD225	Amplia difusión	–
CD226	DNAM-1, PTA1	Adhesión, activación	NK, Plt, Mo, T (sub), B (sub)	Desconocido
CD227	MUC1	Modulación de adhesión, señalización	T, DC, Mo, B, FDC, epitelio de glándulas y conductos	CD54, CD62E, Grb2
CD228	Melanotransferrina	Transporte de hierro	Células de melanoma	Hierro
CD229	Ly9	Adhesión	T, B	Desconocido
CD230	PrP (proteína prion)	¿Transducción de señales?	Amplia difusión	Desconocido (el plasminógeno se fija a la forma mal plegada de PrP)
CD231	TALLA-1, A15	Desconocida	Célula T ALL	Desconocido
CD232	Plexina C1	Receptor para VESP	B	Semaforina codificada por virus (VESP)
CD233	Banda 3	Intercambio de aniones	Eritrocitos	Cloruro y bicarbonato
CD234	Receptor para antígeno Duffy para quimiocinas (DARC)	Receptor para quimiocina	Eritrocitos, endotelio, epitelio, neuronas	CDCL8 (IL-8), CCL5 (RANTES), CCL5 (MCP-1), *Plasmodium vivax*
CD235a	Glucoforina A	Estabilidad mecánica y propiedades elásticas de eritrocitos	Eritrocitos, endotelio, epitelio	*Plasmodium falciparum*
CD235b	Glucoforina B	Estabilidad mecánica y propiedades elásticas de eritrocitos	Eritrocitos, endotelio epitelio	*Plasmodium falciparum*
CD235ab	Glucoforina A/B	Estabilidad mecánica y propiedades elásticas de eritrocitos	Eritrocitos, endotelio epitelio	*Plasmodium falciparum*

(*cont.*)

Marcadores CD (*continuación*)

CD	*Identidad*	*Función*	*Distribución celular*	*Ligandos*
CD236	Glucoforina C/D	Estabilidad mecánica y propiedades elásticas de eritrocitos	Eritrocitos, endotelio	–
CD236R	Glucoforina C	Estabilidad mecánica y propiedades elásticas de eritrocitos	Eritrocitos, endotelio	–
CD238	Grupo sanguíneo Kell	Endopeptidasa que deriva el precursor de endotelina 3 (ET3 grande) y produce el péptido bioactivo multifuncional	Eritrocitos, progenitores mieloides	Endotelina 3 grande
CD239	B-CAM (molécula de adhesión de células B), grupo sanguíneo Lutheran	¿Adhesión, señal?	Amplia difusión	Laminina
CD240CE	Alelos CcEe de grupo sanguíneo Rh	¿Transportador?	Eritrocitos	Desconocido
CD240D	Antígeno D de grupo sanguíneo Rh	¿Transportador?	Eritrocitos	Desconocido
CD240 DCE	Alelos DCcEe de grupo sanguíneo Rh	¿Transportador?	Eritrocitos	Desconocido
CD241	RHAG (glucoproteína asociada con grupo sanguíneo Rh)	Transporte de amoníaco	Eritrocitos	Amoníaco
CD242	ICAM-4	Adhesión	Eritrocitos	CD11a/CD18 (LFA-1), CD11b/CD18 (Mac-1)
CD243	MDR1	Bomba de eflujo de drogas por glucoproteína P	SC	–
CD244	2B4	Interviene en citotoxicidad no restringida por CMH	NK, T (sub)	CD48
CD245	p220/240	Desconocida	T	Desconocido
CD246	ALK (proteína cinasa de linfoma anaplásica)	Señalización	T	Desconocido
CD247	Cadena ζ	Señalización de TCR y FcγRIIIA	T, Mϕ, NK	Ninguno

Abreviaturas: CPA, célula presentadora de antígeno; MO, médula ósea; T, célula T; B, célula B; NK, célula natural killer; Mo, monocito; Mϕ, macrófago; Gr, granulocitos (neutrófilos, basófilos, eosinófilos); Plt, plaquetas; LC, células de Langerhans; DC, células dendríticas interdigitantes; FDC, células dendríticas foliculares; SC, células madre; *, activada; (mat), madura; (sub), subtipo; EBV, virus Epstein-Barr; ECM, matriz extracelular; VWF, factor de von Willebrand. Es posible obtener mayor información gratuita sobre los antígenos CD mediante Protein Reviews, en la web (PROW: Shaw S, Turni LA, y Katz KS [eds.], http://www.ncbi.nlm.nih.gov/prow). Otra fuente excelente de referencia es el libro *The Leucocyte Antigen Facts* (Barclay AN, Brown MH, Law SKA, McKnight AJ, Tomlinson MG, y van der Merwe PA, 2ª ed., 1997, Academic Press, London).

Glosario

www.el12cirujano.blogspot.com/

Acetato miristato de forbol (PMA): éster de forbol mitógeno que estimula directamente la proteincinasa C y actúa como estimulador tumoral.

Adyuvante de Freund: el adyuvante completo de Freund es una emulsión de un antígeno acuoso en aceite mineral que contiene micobacterias muertas por calor. El adyuvante incompleto de Freund carece de micobacterias.

Adyuvante: cualquier sustancia que intensifica en forma no específica la respuesta inmune frente a un antígeno.

Afinidad (intrínseca): la fuerza de unión (constante de afinidad) entre un receptor (p. ej., un sitio de unión con el antígeno en un anticuerpo) y un ligando (p. ej., el epítopo en un antígeno).

Alelo: variantes de un gen polimorfo en un locus genético dado.

Alergeno: antígeno que causa alergia.

Alergia atópica: hipersensibilidad mediada por IgE, por ejemplo, asma, eccema, fiebre del heno y alergias alimentarias.

Alergia: hipersensibilidad mediada por IgE, por ejemplo, asma, eccema, fiebre del heno y alergias a alimentos.

Alogénico: se refiere a las diferencias genéticas entre individuos de la misma especie.

Aloinjerto: injerto de tejido u órgano entre individuos alogénicos.

Alotipo: variante alélica de un antígeno que no se encuentra en todos los individuos, por lo que puede ser inmunógeno en miembros de la misma especie que tienen diferentes versiones del alelo.

Aminas vasoactivas: sustancias como la histamina y la 5-hidroxitriptamina, que incrementan la permeabilidad vascular y la contracción de la musculatura lisa.

Anafilaxia: reacción de hipersensibilidad, a menudo fatal, desencadenada por desgranulación de mastocitos mediada por IgE o anafilatoxina, que produce shock anafiláctico debido a vasodilatación y contracción de la musculatura lisa.

Anafilotoxina: sustancia (p. ej., C3a, C4a o C5a) capaz de desencadenar directamente la desgranulación de los mastocitos.

Anergia: tolerancia inmunitaria específica que puede ser reversible, en la que el linfocito pierde la capacidad de respuesta funcional.

Anticuerpo biespecífico: anticuerpo híbrido producido de manera artificial, en el que cada uno de los dos brazos fijadores de antígeno es específico para un epítopo antigénico diferente. Estos anticuerpos se pueden elaborar mediante enlaces químicos cruzados o técnicas de DNA recombinante, y se usan para unir dos antígenos o células diferentes, por ejemplo, una célula T citotóxica y una célula tumoral.

Anticuerpo fluorescente: anticuerpo conjugado con un colorante fluorescente, por ejemplo, FITC.

Anticuerpo humanizado: anticuerpo monoclonal obtenido genéticamente de un origen no humano, en el que todas las secuencias de CDR, salvo las fijadoras de antígeno, fueron reemplazadas por secuencias derivadas de anticuerpos de seres humanos. Este procedimiento se lleva a cabo para reducir al mínimo la inmunogenicidad de los anticuerpos monoclonales terapéuticos.

Anticuerpo monoclonal: anticuerpo homogéneo derivado de un solo clon de células B, por lo que todos portan idénticos sitios de fijación del antígeno isotipo.

Antígeno CD: designación de los cúmulos de diferenciación asignados a moléculas de superficie de leucocitos, que se identifican con un grupo dado de anticuerpos monoclonales.

Antígeno de diferenciación: molécula de superficie celular expresada en un estadio de desarrollo particular o sobre células de determinado linaje.

Antígeno oncofetal: antígeno cuya expresión suele estar restringida al feto, pero que se puede expresar en patologías malignas de adultos.

Antígeno timodependiente: antígeno que requiere células T helper para generar una respuesta de anticuerpos.

Antígeno timoindependiente: antígeno capaz de generar una respuesta de anticuerpo en ausencia de células T.

Antígeno: cualquier molécula capaz de ser reconocida por un anticuerpo o receptor de célula T.

Antígenos menores de histocompatibilidad: péptidos procesados de superficie celular no codificados por CMH que, junto con las moléculas codificadas por CMH, contribuyen con el rechazo de los injertos, aunque por lo general no tan severo como el debido a la incompatibilidad por CMH.

Antígenos Qa: moléculas CMH clase I "no clásicas" de ratones.

Apoptosis: forma de muerte celular programada, caracterizada por la digestión del DNA con endonucleasa.

Autólogo: del mismo individuo.

Avidez (afinidad funcional): fuerza de unión entre dos moléculas (p. ej., anticuerpo y antígeno), que tiene en cuenta la valencia de la interacción; así, la avidez siempre será equivalente o mayor que la afinidad intrínseca (*véase* afinidad).

β_2-microglobulina: proteína de 12 kDa no codificada dentro del CMH, pero que forma parte de la estructura de las moléculas clase I codificadas en el CMH.

Balsa lipídica: subdominio de la membrana, rico en colesterol y glucoesfingolípidos, en el que se concentran las moléculas que intervienen en la activación celular.

Basófilo: tipo de granulocito sanguíneo similar a los mastocitos tisulares.

BCG (bacilo de Calmette-Guérin): *Mycobacterium tuberculosis* atenuado que se utiliza como vacuna específica contra la tuberculosis y como coadyuvante.

Biblioteca de anticuerpos fágicos: conjunto de secuencias génicas de región variable de anticuerpos clonados que se pueden expresar como proteínas fusionadas Fab o scFv con proteínas de cubierta de bacteriófago. Éstas se pueden disponer sobre la superficie de los fagos. El gen que codifica un anticuerpo recombinante monoclonal queda incluido en la partícula fágica y se puede seleccionar de la biblioteca por medio de la fijación del fago al antígeno específico.

Biolística: uso de partículas pequeñas, por ejemplo, oro coloidal, como vehículo para transportar agentes (fármacos, ácidos nucleicos, etc.) hacia el interior de la célula. Después de ser recubiertas por los agentes buscados, las partículas se lanzan dentro de la dermis del receptor mediante una pistola impulsada por helio.

Bolsa de Fabricio: órgano linfoide primario de las aves, ubicado en la unión entre la cloaca y el intestino posterior; es el sitio de maduración de las células B.

Cadena invariable: polipéptido que fija moléculas CMH clase II en el retículo endoplasmático, las dirige hacia el compartimiento endosómico tardío e impide la asociación prematura con péptidos propios.

Cadena J: molécula que forma parte de la estructura de la IgM pentamérica y la IgA dimérica.

Cambio de clase: proceso por el que una célula B cambia la clase, pero no la especificidad de determinado anticuerpo que produce; por ejemplo, el cambio de un anticuerpo IgM en IgG.

CD3: complejo trimérico de cadenas γ, δ y ε, que junto con un homodímero $\zeta\zeta$ o heterodímero $\zeta\eta$, actúa como unidad señal transductora para el receptor de célula T.

CD4: glucoproteína de superficie celular, por lo general sobre células T helper, que reconoce moléculas CMH clase II en las células presentadoras de antígeno.

CD8: glucoproteína de superficie celular, por lo general sobre células T citotóxicas, que reconoce moléculas CMH clase I sobre las células objetivo.

Célula de Langerhans: célula dendrítica presentadora de antígeno, positiva para receptor Fc y para CMH clase II, que se encuentran en la piel.

Célula dendrítica folicular: célula dendrítica negativa para CMH clase II y positiva para receptor Fc, que porta complejos inmunes sobre su superficie y es probable que intervenga en la generación de células secretoras de anticuerpo y el mantenimiento de la memoria de células B en los centros germinativos (*nota*: tipo celular diferente de las células dendríticas interdigitantes).

Célula dendrítica interdigitante: célula dendrítica presentadora de antígeno, positiva para CMH clase II y negativa para receptor Fc, que se encuentra en zonas de células T de los ganglios linfáticos y el bazo (*nota:* tipo celular diferente de las células dendríticas foliculares).

Célula formadora de placa (PFC): célula plasmática secretora de anticuerpo detectada in vitro por su capacidad de producir una "placa" de eritrocitos lisados sensibilizados por el antígeno, en presencia de complemento.

Célula K (killer): linfocito granular grande que interviene en la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo (ADCC), es positivo para receptor

Fc, pero no se reordena ni expresa genes de inmunoglobulinas o de receptores de células T.

Célula madre: célula multipotencial de la que derivan las células diferenciadas.

Célula NK (natural killer): linfocito granular de gran tamaño que no se reordena ni expresa genes de inmunoglobulinas ni de receptores de células T, pero puede reconocer y destruir ciertas células tumorales o infectadas por virus mediante CMH y en forma independiente de anticuerpo.

Célula plasmática: linfocito B con diferenciación terminal que secreta grandes cantidades de anticuerpo en forma activa.

Célula presentadora de antígeno (APC): término generalmente usado al referirse a células que presentan un péptido antigénico procesado y moléculas de CMH clase II al receptor de células T sobre las células T $CD4^+$, por ejemplo, macrófagos, células dendríticas, células B. No obstante, cabe destacar que la mayoría de los tipos celulares pueden presentar péptidos antigénicos con CMH clase I a células T $CD8^+$, como ocurre con células infectadas por virus.

Célula T NK: células linfáticas $NK1.1^+$ con morfología y contenido de gránulos intermedios entre las células T y las NK. Son poderosos productores de IL-4, pueden ser $CD4^-8^-$ o $CD4^+8^-$, y expresan niveles bajos de TCR $\alpha\beta$ con una cadena α invariable y especificidad de cadena β muy restringida. Muchos de estos TCR reconocen antígenos presentados por la molécula no clásica similar a CMH CD1. Su receptor NK1-1 similar a lectina puede reconocer hidratos de carbono microbianos.

Células B-1/B-2: las dos principales subpoblaciones de linfocitos B. Las células B-1 contienen niveles elevados de IgM de superficie, niveles menores de IgD de superficie, son $CD43^+$, $CD23^-$, y la mayoría expresa el antígeno de superficie celular CD5; se autorrenuevan, y a menudo secretan niveles elevados de anticuerpo que se fija a diversos antígenos ("poliespecificidad") con afinidad relativamente baja. No obstante, la mayoría de las células B es B-2, que expresa niveles bajos de IgM de superficie, niveles mayores de IgD de superficie, no expresa CD5 y es $CD43^-$, $CD23^+$; se generan en forma directa a partir de precursores en la médula ósea y secretan anticuerpo muy específico.

Células de Kuppfer: macrófagos tisulares fijos que revisten los sinusoides hepáticos.

Células de memoria: expansión por clonación de las células T y B producidas durante una respuesta inmune primaria y que son "programadas" para mediar una respuesta inmune secundaria contra el antígeno original.

Células efectoras: células que desempeñan una función inmune, por ejemplo, liberación de citocinas o citotoxicidad.

Células gigantes: grandes células multinucleadas derivadas de macrófagos fusionados, que suelen hallarse en los granulomas.

Células killer activadas por linfocinas (LAK): células killer (K) y natural killer (NK) activadas in vitro por IL-2 para permitir mayor eliminación de las células objetivo.

Centro germinativo: zonas separadas dentro del ganglio linfático y el bazo, donde tienen lugar la maduración de las células B y el desarrollo de la memoria.

Ciclofosfamida: fármaco citotóxico utilizado como inmunosupresor.

Ciclosporina A: fármaco inmunosupresor específico para células T utilizado para impedir el rechazo de injertos.

Cininas: familia de polipéptidos liberados durante la respuesta inflamatoria, que incrementan la permeabilidad vascular y la contracción de la musculatura lisa.

Citocinas: proteínas de bajo peso molecular que estimulan o inhiben la diferenciación, la proliferación o la función de las células inmunitarias.

Citofílico: que se fija a células.

Citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo (CCDA): reacción citotóxica en la que una célula objetivo recubierta por anticuerpo es destruida directamente por un leucocito portador de receptor Fc, por ejemplo, células NK, macrófagos o neutrófilos.

Citotóxico: que destruye células.

Clon: células idénticas derivadas de un solo progenitor.

CMH (complejo mayor de histocompatibilidad): región genética codificadora de las moléculas que intervienen en la presentación de antígenos a las células T. Las moléculas CMH clase I se encuentran en casi todas las células nucleadas, son codificadas sobre todo por los loci H-2K, D y L en ratones, y por los HLA-A, B y C en el hombre, mientras que las moléculas CMH clase II se expresan en células presentadoras de antígeno (sobre todo macrófagos, células B y células dendríticas interdigitantes) y son codificadas por H-2A y E en ratones, y HLA-DR, DQ y DP en el hombre. Se pueden asociar diferencias alélicas con el rechazo más intenso de injertos dentro de la especie.

Complejo de ataque de membrana (MAC): complejo de los componentes C5b-C9 del complemento, que se insertan como un poro en la membrana de las células blanco e induce la lisis celular.

Complejo inmune: complejo de anticuerpos unido a antígeno, que también puede contener componentes del complemento.

Complemento: grupo de proteínas séricas, algunas de las cuales actúan en una cascada enzimática, productoras de moléculas efectoras que intervienen en la inflamación (C3a, C5a), la fagocitosis (C3b) y la lisis celular (C5b-9).

Componente secretor: producto de escisión proteolítica del receptor de poli-Ig que permanece asociado con IgA dimérica en secreciones seromucosas.

Cona (concanavalina A): mitógeno de células T.

Congénico: animales que sólo difieren en un solo locus genético.

Conjugado: complejo formado por dos o más moléculas unidas mediante enlaces covalentes (p. ej., fluoresceína conjugada con anticuerpo).

Corteza: capa externa (periférica) de un órgano.

Deleción clonal: proceso por el cual el contacto con un antígeno (p. ej., un autoantígeno) en un estadio temprano de la diferenciación de linfocitos induce la muerte celular por apoptosis.

Desequilibrio de enlace: aparición de dos alelos heredados juntos con mayor frecuencia de lo esperado, de acuerdo con el producto de sus frecuencias individuales.

Determinante antigénico: cúmulo de epítopos (*véase* epítopo).

Edema: tumefacción causada por acumulación de líquido en los tejidos.

Efecto prozona: pérdida de precipitación o aglutinación inmunes que tiene lugar cuando se aumenta la concentración de anticuerpo hasta el punto en que el anticuerpo se encuentra en tal exceso que ya no es capaz de formar enlaces cruzados efectivos con el antígeno. Se puede producir un fenómeno similar con exceso de antígeno.

ELISA (ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas; *enzyme-linked immunosorbent assay*): prueba para la detección o la cuantificación de un anticuerpo o un antígeno mediante un ligando (p. ej., una antiinmunoglobulina) conjugada con una enzima que cambia el color de un sustrato.

Endocitosis: incorporación de macromoléculas a la célula por invaginación de la membrana plasmática, con formación de una vesícula intracelular que encierra el material ingerido.

Endógeno: desde el interior.

Endosomas: vesículas intracelulares de superficie lisa, en las que el material incorporado por endocitosis sigue su camino hacia los lisosomas.

Endotoxina: lipopolisacáridos asociados con la pared de las células patógenas de bacterias gramnegativas.

Eosinófilo: clase de granulocito cuyos gránulos contienen proteínas catiónicas tóxicas.

Epítopo: parte de un antígeno reconocida por un receptor de antígeno (*véase* determinante antigénico).

Equivalencia: proporción entre anticuerpo y antígeno en la que es casi completa la inmunoprecipitación de los reactivos.

Eritema: enrojecimiento producido durante la inflamación, debido al ingreso de eritrocitos en los espacios tisulares.

Eritropoyesis: producción de eritrocitos.

Estallido respiratorio: aumento del metabolismo oxidativo que tiene lugar en las células fagocíticas tras la activación.

Exclusión alélica: fenómeno por el cual luego del reordenamiento exitoso de un alelo en un gen receptor de antígeno se suprime el reordenamiento del otro alelo de los progenitores, por lo que se asegura que cada linfocito sólo expresa una sola especificidad de receptor de antígeno (si bien esto no ocurre con las cadenas α de las células T).

Exotoxina: proteína patógena secretada por bacterias.

Exudado: líquido extravascular (con proteínas y detritos celulares) que se acumula durante la inflamación.

F(ab')$_2$: fragmento bivalente fijador de antígeno que se obtiene tras la digestión con pepsina de las inmunoglobulinas. Presenta las dos cadenas livianas y la porción N terminal de ambas cadenas pesadas unidas por puentes disulfuro.

Fab: fragmento monovalente fijador de antígeno que se obtiene luego de la digestión con papaína de las inmunoglobulinas. Presenta una cadena liviana intacta y los dominios V_H y C_H1 N terminales de la cadena pesada.

Factor de necrosis tumoral (TNF, también denominado **TNFα):** junto con la linfotoxina citocina relacionada (TNFβ), en principio se denominó así por su efecto citotóxico sobre ciertas células tumorales, pero también tiene funciones inmunorreguladoras.

Factor reumatoideo: autoanticuerpos de IgM, IgG e IgA contra IgG, en particular la región Fc.

Factores estimuladores de colonias (CSF): factores que permiten la proliferación y la diferenciación de células hematopoyéticas.

Fagocito: células como monocitos/macrófagos y neutrófilos, especializados en la captación de sustancia celular y particulada.

Fagolisosoma: vacuola intracelular en la que tienen lugar la destrucción y la digestión del material fagocitado, después de la fusión del fagosoma con el lisosoma.

Fagosoma: vacuola intracelular producida luego de la invaginación de la membrana celular alrededor del material fagocitado.

Fas: miembro de la familia génica de receptores TNF. La ocupación de Fas (CD95) sobre la superficie de la célula por el ligando Fas (CD178) presente sobre las células citotóxicas puede inducir la apoptosis en la célula objetivo portadora de Fas.

Fc: fragmento cristalizable y no fijador de antígeno de una molécula de inmunoglobulina, que se obtiene después de la digestión con papaína. Presenta la porción C terminal de ambas cadenas pesadas, responsable de la fijación a los receptores Fc y C1q.

Fibroblasto: célula de tejido conectivo que produce colágeno y desempeña un papel importante en la cicatrización de heridas.

Formación de casquete: proceso activo por el cual enlaces cruzados de las moléculas de superficie celular (p. ej., por un anticuerpo) causan la agregación y la migración posterior de las moléculas hacia un polo de la célula.

Gamaglobulina: proteínas séricas, en su mayor parte inmunoglobulinas, con mayor movilidad hacia el cátodo en la electroforesis.

Genes *Ir* (de respuesta inmune)**:** genes, incluso los que pertenecen al CMH, que en conjunto determinan el nivel global de respuesta inmune a un antígeno dado.

Glomerulonefritis: inflamación de las asas capilares del glomérulo renal, a menudo consecuencia del depósito de un complejo inmune.

Granulocito: células mieloides que contienen gránulos citoplasmáticos (es decir, neutrófilos, eosinófilos y basófilos).

Granuloma: nódulo tisular que contiene linfocitos en proceso de proliferación, fibroblastos y células gigantes y epitelioides (ambos derivados de macrófagos activados), que se forman debido a la inflamación producida en respuesta a infección crónica o persistencia del antígeno en los tejidos.

Granzimas: esterasas de serina presentes en los gránulos de linfocitos T citotóxicos y células NK. Inducen apoptosis en la célula blanco, en la que penetran a través de canales de perforina insertados en la membrana de la célula blanco por el linfocito citotóxico.

H-2: complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) murino.

Haplotipo: conjunto de variantes alélicas presentes en determinada región genética.

Hapteno: molécula de bajo peso molecular reconocida por anticuerpos preformados, no inmunógena por sí sola, a menos que esté conjugada con una molécula "portadora" que provea los epítopos reconocidos por las células T helper.

Hemaglutinina: cualquier molécula que aglutina eritrocitos.

Hematopoyesis: producción de eritrocitos y leucocitos.

Hibridoma: línea celular híbrida obtenida por la fusión de una célula linfática tumoral con un linfocito, que así posee la inmortalidad de la célula tumoral y la función efectora del linfocito (p. ej., la secreción de anticuerpo monoclonal).

Hipermutación somática: la mayor tasa de mutaciones puntuales en la región variable de los genes de las inmunoglobulinas que se producen tras la estimulación antigénica y actúan como mecanismo para incrementar la diversidad y la afinidad del anticuerpo.

Hipersensibilidad de tipo retardado (DTH): reacción de hipersensibilidad que tiene lugar dentro de las 48-72 horas posteriores a la liberación de citocinas por células T sensibilizadas, y es mediada por esa liberación.

Hipersensibilidad: respuesta inmune excesiva que genera consecuencias no buscadas, por ejemplo, lesiones tisulares u orgánicas.

Histamina: amina vasoactiva presente en los gránulos de los basófilos y los mastocitos, que al liberarse incrementa la permeabilidad vascular y la contracción de la musculatura lisa.

HLA (antígeno leucocitario humano, *human leukocyte antigen*)**:** complejo mayor de histocompatibilidad humano (CMH).

Humoral: perteneciente al líquido extracelular, por ejemplo, el plasma y la linfa. Se utiliza el término inmunidad humoral para denotar respuestas inmunes mediadas por anticuerpos.

Idiotipo: conjunto completo de idiotopes de la región variable de un anticuerpo o un receptor de célula T que reacciona con un suero antiidiotípico.

Idiótopo: epítopo formado por aminoácidos de la región variable de un anticuerpo o un receptor de célula T que reacciona con un antiidiótopo.

IDSC (*severe combined immunodeficiency;* inmunodeficiencia combinada severa)**:** inmunodeficiencia que afecta los linfocitos T y B.

IgA secretora: IgA dimérica que se encuentra en las secreciones seromucosas.

Imagen interna: epítopo sobre un antiidiotipo que se fija de modo tal que simula ser el antígeno tanto en estructura como en función.

Inflamación: respuesta tisular al traumatismo, caracterizada por aumento del flujo sanguíneo y el ingreso de leucocitos en los tejidos, lo que produce tumefacción, enrojecimiento, aumento de la temperatura y dolor.

Inmunidad innata: inmunidad no afectada en forma intrínseca por el contacto previo con el antígeno, es decir, todos los aspectos de la inmunidad no mediados directamente por los linfocitos.

Inmunidad mediada por células (IMC): se refiere a las respuestas inmunes mediadas por células T.

Inmunoadsorción: método para la extracción de un anticuerpo o un antígeno al dejarlo que se fije a antígenos o anticuerpos de fase sólida.

Inmunofluorescencia: técnica para la detección de antígenos asociados a células o tejidos mediante el uso de un ligando marcado con sustancias fluorescentes (p. ej., una antiinmunoglobulina conjugada con isotiocianato de fluoresceína).

Inmunógeno: cualquier sustancia que induce una respuesta inmune. Mientras que todos los inmunógenos son antígenos, no todos los antígenos son inmunógenos (*véase* hapteno).

Interferones (IFN): el IFNα deriva de diversos leucocitos, el IFNβ de los fibroblastos y el IFNγ de los linfocitos T. Los tres tipos inducen un estado antiviral en las células, y el IFNγ actúa como citocina en la regulación de respuestas inmunes.

Interleucinas (IL): designación de algunas citocinas secretadas por los leucocitos.

Isotiocianato de fluoresceína (FITC): colorante fluorescente verde utilizado para "marcar" anticuerpos que se usan en inmunofluorescencia.

Isotipo: estructura de la región constante de un anticuerpo presente en todos los individuos normales, es decir, clase o subclase de anticuerpo.

ITAM (*Immunoreceptor Tyrosine-based Activation Motifs*, motivos de activación de inmunorreceptor basados en tirosina): son secuencias de consenso para tirosin cinasas de la familia src. Estos motivos se encuentran en los dominios citoplasmáticos de varias moléculas de señalización, por ejemplo, las unidades de transducción de señal de los receptores de antígeno de los leucocitos y los receptores Fc.

ITIM (*Immunoreceptor Tyrosine-based Inhibitory Motifs*, motivos de inhibición de inmunorreceptor basados en tirosina): se encuentran en los dominios citoplasmáticos de algunas moléculas de superficie celular, por ejemplo, Fcγ RIIB, receptores inhibitorios de células NK, que median señales inhibitorias.

KIR (*Killer cell Immunoglobulin-like Receptors*, receptores similares a inmunoglobulinas en las células killer): se encuentran en las células K, algunas células T$\gamma\delta$ y algunas células T$\alpha\beta$. Las KIR reconocen moléculas CMH clase I y, al igual que los receptores de lectina tipo C que también se encuentran en estas células, pueden inhibir o activar las células killer. Si en los dominios citoplasmáticos se encuentran secuencias ITIM, son inhibitorios. Los KIR que carecen de ITIM se pueden asociar con moléculas adaptadoras que contienen ITAM, en cuyo caso pueden activar la célula killer.

Lectinas: familia de proteínas, en su mayoría de origen vegetal, que fijan azúcares específicos a glucoproteínas y glucolípidos. Algunas lectinas son mitógenas (p. ej., PHA, ConA).

Leucotrienos: productos metabólicos del ácido araquidónico que favorecen los procesos inflamatorios (p. ej., quimiotaxis, mayor permeabilidad vascular) y son producidos por diversos tipos celulares, por ejemplo, mastocitos, basófilos y macrófagos.

Ligando: término general para las moléculas reconocidas por una estructura fijadora, por ejemplo, un receptor.

Línea germinal: disposición del material genético como es transmitido por los gametos.

Linfa: líquido tisular que drena hacia el sistema linfático y circula en su interior.

Linfadenopatía: ganglios linfáticos aumentados de tamaño.

Linfocina: citocina producida por los linfocitos.

Linfocito granular grande (LG): linfocitos de gran tamaño que contienen gránulos citoplasmáticos y actúan como células natural killer (NK) y killer (K). Los linfocitos T citotóxicos CD8$^+$ activados (Tc) también adoptan una morfología de LG.

Linfocito T helper (Th): subclase de células T que proporcionan la ayuda (bajo la forma de citocinas, interacciones cognadas o ambas) necesaria para la expresión de la función efectora por otras células del sistema inmune.

Linfocitos T citotóxicos (Tc): células T (por lo general CD8$^+$) que eliminan células blanco tras el reconocimiento de moléculas peptídicas extrañas-CMH sobre la membrana de la célula blanco.

Linfotoxina (también denominada **TNFβ**)**:** citocina derivada de células T que es citotóxica para ciertas células tumorales y tiene además funciones inmunorreguladoras.

Lipopolisacárido (LPS): endotoxina derivada de las paredes celulares de bacterias gramnegativas con actividades inflamatoria y mitógena.

Lisosomas: gránulos citoplasmáticos que contienen enzimas hidrolíticas que intervienen en la digestión del material fagocitado.

Lisozima: enzima antibacteriana que se encuentra en los gránulos de células fagocíticas, las lágrimas y la saliva, y digiere los peptidoglucanos de las paredes celulares de las bacterias.

Macrófago: célula fagocítica de gran tamaño que deriva del monocito sanguíneo y que también actúa como célula presentadora de antígeno y mediador de CCDA.

Marginación: adhesión de leucocitos al endotelio de los vasos sanguíneos durante la fase temprana de la reacción inflamatoria aguda.

Mastocito: célula tisular con abundantes gránulos, similar al basófilo sanguíneo. Ambos tipos celulares portan receptores Fc para IgE, en los que cuando se forman enlaces cruzados con IgE y antígeno se produce desgranulación y liberación de varios mediadores, entre ellos histamina y leucotrienos.

Médula: región interna (central) de un órgano.

Megacariocito: precursor de plaquetas en la médula ósea.

Memoria (inmunitaria): característica de la respuesta inmune adquirida de los linfocitos, por la que un segundo encuentro con un antígeno dado produce una respuesta inmune secundaria más rápida, intensa y prolongada que la respuesta inmune primaria.

Mieloma múltiple: patología maligna de las células plasmáticas que produce niveles elevados de inmunoglobulina monoclonal en suero y de cadenas livianas libres (proteína de Bence-Jones) en orina.

Mitógeno de fitolaca (PMW): lectina vegetal mitógeno de células B dependiente de células T.

Mitógeno: sustancia que induce la proliferación linfocitaria en forma no específica.

Monocito: fagocito mononuclear de la sangre que es precursor del macrófago tisular.

Murino: relativo a ratones.

Neutrófilo: principal granulocito polimorfonuclear fagocítico circulante. Ingresa en los tejidos al comienzo de la respuesta inflamatoria y también puede mediar la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo (CCDA).

Noqueo (Knockout): uso de recombinación genética homóloga en células madre embrionarias para reemplazar un gen funcional por una copia defectuosa del gen. Los animales obtenidos mediante esta técnica se pueden cruzar hasta lograr la homocigosis, lo que permite generar un fenotipo nulo para ese producto génico.

Opsonina: sustancia, por ejemplo un anticuerpo o un C3b, que favorece la fagocitosis al facilitar la adhesión del antígeno al fagocito.

Opsonización: cobertura del antígeno con opsoninas para facilitar la fagocitosis.

Órganos linfoides primarios: sitios en los que se desarrollan los linfocitos inmunocompetentes, a saber, la médula ósea y el timo en mamíferos.

PAF (*platelet activating factor;* factor activador de plaquetas)**:** fosfolípido alquilado liberado por diversos tipos celulares, por ejemplo, mastocitos y basófilos, que tiene efectos inmunorreguladores sobre linfocitos y monocitos/macrófagos, además de causar agregación y desgranulación plaquetaria.

Paracorteza: parte de un órgano (p. ej., ganglio linfático) ubicada entre la corteza y la médula.

Patrón molecular asociado con patógenos (PAMP): moléculas, como lipopolisacáridos, peptidoglucanos, ácidos lipoteicoicos y mananos, que se expresan ampliamente en patógenos microbianos como motivos repetidos, pero no se encuentran en tejidos del huésped. Por lo tanto, son utilizadas por los receptores de reconocimiento de patrón (PRR) del sistema inmune para distinguir los patógenos de los autoantígenos.

Perforina: molécula producida por células T citotóxicas y células NK que, como el componente C9 del complemento, se polimeriza para formar un poro en la membrana de la célula blanco, lo que conduce a muerte celular.

PHA (fitohemaglutinina): lectina vegetal que actúa como mitógeno de células T.

Placas de Peyer: parte del tejido linfoide asociado con el intestino (GALT), que se encuentra como nódulos linfáticos diferenciados, sobre todo en el intestino delgado.

Policlonal: muchos clones diferentes, o el producto de muchos clones diferentes, por ejemplo, un antisuero policlonal.

Precipitina: precipitado de anticuerpo y antígeno multivalente, debido a la formacón de complejos de elevado peso molecular.

Programación: proceso de iniciar la primera sensibilización al antígeno.

Prostaglandinas: lípidos ácidos derivados de ácido araquidónico capaces de incrementar la permeabilidad vascular, mediar la fiebre y estimular o inhibir las respuestas inmunes.

Proteasoma: complejo de enzimas proteolíticas citoplasmáticas que intervienen en el procesamiento del antígeno para su asociación con CMH.

Proteína A: proteína de la pared celular de *Staphylococcus aureus* que se fija a la región Fc de la IgG.

Proteína C reactiva: proteína de fase aguda capaz de fijarse a la superficie de los microorganismos, donde funciona como estimulador de la vía clásica de activación del complemento, y como opsonina en la fagocitosis.

Proteína de mielona: anticuerpo monoclonal secretado por células de mieloma.

Proteína fijadora de manosa: miembro de la familia de colectinas, de las lectinas dependientes de calcio, y una proteína de fase aguda. Actúa como estimuladora de la vía clásica de activación del complemento y como opsonina para la fagocitosis al fijarse a la manosa, un residuo de azúcar que sólo se suele encontrar en forma expuesta en la superficie de los microorganismos.

Proteina tirosina cinasas: enzimas capaces de fosforilar las proteínas de las tirosinas; a menudo actúan como una cascada en el sistema de transducción de señales de las células.

Proteínas de fase aguda: proteínas séricas, en su mayoría producidas por el hígado, cuyas concentraciones cambian con rapidez (algunas aumentan, otras disminuyen) durante la iniciación de una respuesta inflamatoria.

Prueba de Coombs: prueba diagnóstica en la que se utiliza antiinmunoglobulina para aglutinar eritrocitos recubiertos por anticuerpo.

Quimérico: mezcla de individuos genéticamente diferenciados, por ejemplo, después de un injerto alogénico de médula ósea.

Quimiocinas: familia de citocinas relacionadas en estructura que inducen en forma selectiva la quimiotaxis y la activación de leucocitos. También desempeñan papeles importantes en el desarrollo de órganos linfoides, la compartimentalización de los tejidos linfoides, el desarrollo de Th1/Th2, la angiogénesis y la cicatrización de heridas.

Quimiotaxis: movimiento de células contra un gradiente de concentración de factores quimiotácticos.

Ratón desnudo: ratón deficiente en células T debido a un defecto génico homocigótico (*nu/nu*) que causa la ausencia de timo (y de pelo corporal).

Reacción injerto vs. huésped (i.v.h.): reacción que tiene lugar cuando los linfocitos T presentes en un injerto reconocen y atacan células del huésped.

Reacción linfocitaria mixta (MLR): respuesta de proliferación de células T inducida por células que expresan CMH alogénico.

Receptor de célula T (TCR): el receptor de antígeno heterodimérico de los linfocitos T se encuentra en dos formas alternativas, compuesto por cadenas α y β, o γ y δ. El TCR αβ reconoce fragmentos peptídicos de antígenos proteicos presentados por moléculas CMH sobre las superficies celulares. La función de TCR γδ está menos definida, pero puede reconocer proteínas nativas sobre la superficie celular.

Receptor de reconocimiento de patrón (PRR): receptores sobre células presentadoras de antígeno profesionales y fagocitos, que les permiten reconocer patrones moleculares asociados con patógenos (PAMP). Entre la gran cantidad de distintos PRR se cuentan los receptores para manosa (CD206) y macrófagos recolectores de detritos (CD204).

Receptor poli-Ig: molécula receptora que fija específicamente la cadena J que contiene Ig polimérica, es decir, la IgA secretora dimérica y la IgM pentamérica, y la transporta a través del epitelio de la mucosa.

Receptores Fc: receptores de superficie celular que fijan la porción Fc de clases particulares de inmunoglobulinas.

Red de idiotipos: red reguladora basada en las interacciones entre los idiotipos y los antiidiotipos presentes sobre los anticuerpos y los receptores de célula T.

Región bisagra: aminoácidos ubicados entre las regiones Fab y Fc de las inmunoglobulinas, para permitir la flexibilidad de la molécula.

Regiones armazón: secuencias de aminoácidos relativamente conservadas que flanquean las regiones hipervariables en las inmunoglobulinas y las regiones variables del receptor de células T, y mantienen una estructura global común para todos los dominios de la región V.

Regiones determinantes de complementariedad (CDR): secuencias hipervariables de aminoácidos dentro de las regiones variables del anticuerpo y del receptor de células T, que interactúan con aminoácidos complementarios sobre el antígeno o el complejo péptido-CMH.

Regiones hipervariables: secuencias de aminoácidos dentro de las regiones variables de las inmunoglobulinas y el receptor de célula T, que muestran la mayor variabilidad y contribuyen en mayor medida con el sitio de unión con el antígeno o el péptido-CMH.

Resonancia plasmón de superficie: técnica basada sobre cambios en el ángulo de luz reflejada que tiene lugar ante la unión del ligando a una molécula blanco inmovilizada sobre un dispositivo biosensor. Esto permite observar las interacciones entre proteínas (p. ej., la fijación de un anticuerpo a un antígeno) en "tiempo real", es decir, a través del monitoreo continuo de la asociación y la disociación de la reacción reversible.

Respuesta inmune adquirida: inmunidad mediada por linfocitos y caracterizada por especificidad de antígeno y memoria.

Respuesta inmune primaria: respuesta inmune relativamente débil que tiene lugar después del primer enfrentamiento de linfocitos no programados con determinado antígeno.

Respuesta inmune secundaria: respuesta inmune mejorada en sentido cuantitativo y cualitativo, que tiene lugar ante el segundo enfrentamiento de los linfocitos programados con un antígeno dado.

Restricción de CMH: se trata de la necesidad de que las células T sólo reconozcan el antígeno procesado cuando es presentado por moléculas CMH del haplotipo original asociado con la programación de las células T.

Roseta: partículas o células unidas a la superficie de un linfocito (p. ej., eritrocitos de carnero alrededor de una célula T humana).

scFv: molécula monocatenaria compuesta por las regiones variables de las cadenas livianas y pesadas de un anticuerpo unidas mediante un ligador flexible.

Secuencia señal de recombinación (RSS): secuencias conservadas heptaméricas (de 7 nucleótidos)-nonaméricas (de 9 nucleótidos), separadas por un espaciador de 12 o 23 bases que aparece en posición 3′ de los segmentos génicos variables, 5′ y 3′ de los segmentos génicos de diversidad, y 5′ de los segmentos génicos de unión, tanto en los genes de receptores de inmunoglobulinas como en los de células T. Actúan como secuencias de reconocimiento para las enzimas recombinasas que median el proceso de reordenamiento génico relacionado con la generación de diversidad de receptor de antígeno linfocitario.

Secuencias de cambio: secuencias repetidas muy conservadas que median el cambio de clase en el locus génico de la cadena pesada de una inmunoglobulina.

Segmentos génicos de diversidad (*D*): se encuentran en el gen de cadena pesada de una inmunoglobulina y en los loci génicos β y δ del receptor de células T, entre los segmentos génicos *V* y *J*. Codifican parte de la tercera región hipervariable de estas cadenas de receptores para el antígeno.

Segmentos génicos de unión (*J*): se encuentran en los loci génicos de las inmunoglobulinas y el receptor de células T, y cuando tiene lugar el reordenamiento génico codifican parte de la tercera región hipervariable de los receptores de antígeno.

Segmentos génicos variables (*V*): genes que en conjunto se reordenan con los segmentos génicos *D* (de diversidad) y *J* (unión), con el fin de codificar las secuencias de aminoácidos de la región variable de los receptores de inmunoglobulinas y de células T.

Selección clonal: selección y activación por el antígeno de un linfocito portador de un receptor complementario, que luego prolifera hasta formar un clon expandido.

Selección negativa: eliminación por apoptosis de las células T del timo que reconocen los péptidos propios presentados por moléculas CMH propias, por lo que impiden el desarrollo de células T autoinmunes. Se piensa que la selección negativa de células B en desarrollo también tiene lugar si encuentran niveles elevados de autoantígenos en la médula ósea.

Selección positiva: selección de las células T del timo en proceso de desarrollo, capaces de reconocer las moléculas CMH propias. Esto ocurre cuando se impide la apoptosis de estas células.

Sinapsis inmunitaria: punto de contacto entre la célula T y la presentadora de antígeno generada por reordenamiento y agrupación de moléculas de superficie celular en balsas de lípidos. La sinapsis facilita las interacciones entre TCR y CMH, y entre moléculas de adhesión, por lo que potencia la señal de activación mediada por TCR.

Síndrome de DiGeorge: inmunodeficiencia causada por una insuficiencia congénita en el desarrollo del timo, que trae como consecuencia una falta de células T maduras funcionales.

Singénico: genéticamente idéntico, por ejemplo, una cepa de ratones obtenida por cruzamiento endogámico.

Sistema de fagocitos mononucleares: sistema que comprende los monocitos de la sangre y los macrófagos de los tejidos.

Sistema reticuloendotelial (SRE): término bastante antiguo para la red de fagocitos y las células endoteliales en todo el organismo.

Superantígeno: antígeno que reacciona con todas las células T pertenecientes a una familia particular de regiones V de receptor de células T, por lo que estimula (o suprime) una cantidad mucho mayor de células que un antígeno convencional.

Superfamilia de inmunoglobulinas: gran familia de proteínas que se caracterizan por contener dominios del tipo de inmunoglobulinas, de unos 110 aminoácidos, plegados en dos láminas β. Incluye inmunoglobulinas, receptores de células T y moléculas CMH.

TAP: transportadores asociados con procesamiento de antígeno (TAP-1 y TAP-2), son moléculas que portan péptidos antigénicos desde el citoplasma hacia el interior de la luz del retículo endoplasmático, para la incorporación en moléculas CMH clase I.

Tejido linfoide asociado a intestino (GALT) (*gut-associated lymphoid tissue*)**:** abarca las placas de Peyer, el apéndice y los ganglios linfáticos solitarios de la submucosa.

Tejido linfoide asociado a mucosas (MALT): tejido linfoide que se encuentra en la mucosa superficial de las vías respiratorias y genitourinarias, y el tracto gastrointestinal.

Timocito: célula T en desarrollo en el timo.

Título: medida de la "fuerza" relativa (combinación de cantidad y avidez) de un anticuerpo o un antisuero, por lo general determinado como la máxima dilución que aún se pueda detectar en las operaciones, por ejemplo en ELISA.

Tolerancia: falta de respuesta inmune específica.

Tolerógeno: antígeno utilizado para inducir tolerancia. A menudo depende más de las circunstancias de administración (p. ej., vía y concentración) que de cualquier propiedad inherente a la molécula.

Toxoide: toxina modificada por medios químicos o físicos, que ya no es lesiva pero mantiene la inmunogenicidad.

Transportador: cualquier molécula que al conjugarse con una molécula no inmunógena (p. ej., un hapteno) la transforma en inmunógena, al proporcionarle epítopos para células T helper, de los que carece el hapteno.

Vaina linfática periarteriolar (PALS): tejido linfático que forma la pulpa blanca del bazo.

Vénula de endotelio alto (HEV): vénulas capilares compuestas por células endoteliales especializadas que permiten la migración de linfocitos hacia el interior de los órganos linfoides.

Vía alternativa (de activación del complemento): vía de activación en la que intervienen componentes del complemento C3, factor B, factor D y properdina que, en presencia de una superficie activadora estabilizante, como un polisacárido microbiano, genera la vía alternativa C3 convertasa $\overline{\text{C3bBb}}$.

Vía clásica (de activación de complemento): vía de activación que comprende los componentes C1, C2 y C4 del complemento que, tras la fijación de C1q, por ejemplo mediante complejos antígeno-anticuerpo, produce la vía clásica C3 convertasa $\overline{\text{C4b2a}}$.

Virus de Epstein-Barr (EBV): virus responsable de mononucleosis infecciosa y linfoma de Burkitt. Se usa para inmortalizar células B humanas in vitro.

Xenogénico: diferencias genéticas entre especies.

Xenoinjerto: injerto de tejido u órgano entre individuos de distintas especies.

Zona marginal: la zona externa de la vaina linfática periarteriolar del bazo (PALS), rica en células B, sobre todo las que responden a los antígenos independientes del timo.

Índice analítico

www.el12cirujano.blogspot.com/

A

- Agammaglobulinemia congénita de Bruton, 351
- Abzimas, 135
- Acantosis nigricans, 458*c*, 485
- Ácaros del polvo doméstico, 372*f*
- Aceites de pescado, 245
- Ácido láctico, 1
- ACTH, 242*f*, 313, 506
- Activadores policlonales de células T y B, 474
- Adherencia, 143
- Adresinas vasculares, 167
- Adyuvante(s)
  - activación de macrófagos, 342
  - efectos
    - de depósito, 341
    - sobre los linfocitos, 341
  - de Freund
    - completo, 216, 242, 341, 390
    - incompleto, 341
  - Ribi, 341
  - en vacunas, 340
- Afinidad, 95*f*, 96, 96*f*, 97*f*
  - factores que la afectan, 219
  - funcional, 99
  - maduración de la, 219
- Aglutininas, 274
- Agonistas, 189
  - beta 2-agonistas, 378
  - parciales, 189
- Agranulocitosis inducida por fármacos, 383
- Alergenos, inhalados, respuestas clínicas frente a, 370
- Alergia
  - a los alimentos, 372, 373*f*
  - atópica, 372*f*, 485*f*
    - etiología, 375
    - factores genéticos, 375
    - pruebas clínicas, 376
    - receptores celulares, 374*f*
    - tratamiento, 376
  - roncha y eritema, 376
- Alfa 1
  - antitripsina, 17
  - timosina, 251
- Aloinjerto, 400*f*. *Véase también Injertos*
  - feto como, 421, 422*f*
  - reacciones de hipersensibilidad tipo II contra, 380
  - respuesta, 403
  - tolerancia a, 413*f*
- Alotipos, 46
- Alveolitis alérgica extrínseca, 386*f*
- Amidopirina, 383
- Amígdalas, 171
- Amiloide, 439
- Amplificación intercatenaria, 75
- Anafilaxia, 367
  - descubrimiento, 368
- Anafilotoxina, 13, 321
- Análisis
  - de dilución limitante, 152, 153*f*
  - de Scatchard, 98*f*, 121
- Anemia
  - hemolítica
    - autoinmune, 382, 456
    - como reacción a los fármacos, 383
    - patogenia, 483
  - perniciosa, 458*c*, 459*c*, 486*f*
    - histopatología, 485
- Anergia
  - clonal, 262
    - y tolerancia de células T, 262
  - infecciosa, 263, 264*f*, 412*f*
- Angioedema hereditario, 349
- Angiogénesis, 447
- Angiotensina, 17*c*
- Animales transgénicos, 158, 257, 435
- Anión superóxido, 7
- Antagonistas, 189
- Anti
  - CD3, 407
  - CD4, 412
  - CD8, 412
  - idiotipos, 68*f*, 233, 334
- Anticoncepción inmunológica, 423*f*
- Anticuerpo(s), 23, 24*f*, 41. Véase también *Inmunoglobulinas*

Anticuerpo(s) (cont.)
  adquirido de la madre, 319, 321
  de alta afinidad, 96
  antivirales, 304
  base celular de la producción, 26
  catalíticos, 135
  como inhibidor, 140
  contenido, 119
  diversidad de secuencia, 218*f*
  efectos
    antibacterianos, 289, 296*f*
    antiparasitarios, 307, 309*f*
  especificidad del reconocimiento del antígeno, 100
  estimación, 120
  estimulantes del tiroides, 393
  estructura, 215
  evolución de la generación de diversidad, 71
  exceso, 121*f*, 384
  humanos anti-ratón, 136
  humorales, 404
  en la inactivación de células fagocíticas, 25, 26*f*
  de ingeniería genética, 137, 138*f*, 322
  inmunoensayo, 125
  monoclonales, 44, 92*f*, 133
    como abzimas, 136
    humanos, 135, 136
    ingeniería genética, 137, 138*f*, 322
    producción de, 134*f*
    en el tratamiento del cáncer, 446
  naturales, 233, 465
  y neutralización de la actividad biológica, 140, 291
  neutralizantes contra progesterona, 423
  prueba indirecta, 146, 147
  purificación por cromatografía de afinidad, 139
  en rechazo de injerto, 405, 406*f*
  síntesis, 216
    en invertebrado, 274
  títulos, 119
  unión al antígeno, 41, 120
    afinidad de, 95*f*, 96, 96*f*, 97*f*, 122
    complementariedad espacial, 92, 92*f*
    efecto de bonificación de la multivalencia, 98, 99, 99*f*
    fuerzas, 94
    reversibilidad, 94, 94*f*, 96*f*
Antifagocitos, 286
Antígeno(s), 27, 29*f*, 89
  avidez del antisuero por, 98
  carcinoembrionario, 429
  y control de la respuesta inmune adquirida, 219
  controlado por virus, 427
  dependientes del timo, 191, 193*f*
    procesamiento por células B, 192
  determinante, 90
  efecto de la dosis, 219
  exceso, 121*f*, 384
  funcional linfocitario
    1, 184, 221
    3, 184, 221
  de histocompatibilidad, 79
  identificación
    y cuantificación, 127
    de epítopos de células B, 90
  inmunoensayo, 130
  interferencia dentro de una mezcla, 225
  de la leucemia linfoblástica aguda común (CALLA), 436
  leucocítico cutáneo (CLA), 167, 176
  liberación lenta, 344
  mutante, 430
  oncofetal, 429
  presentación, 343
    por liposomas, 343
  procesamiento, 103, 106*f*, 192, 302
  purificación por cromatografía de afinidad, 139
  receptor de superficie de la célula
    B, 65
    T. Véase *Receptores de células T*
  reconocimiento
    especificidad del, 100
    generación de diversidad para el, 63
  sitio de unión, 52
  timodependiente, 191, 193*f*
  timoindependiente, 190
  trasplante, 399, 401
  unión a anticuerpos, 41, 120
    afinidad de, 94, 95*f*, 96*f*, 97*f*
    complementariedad espacial, 92, 92*f*
    efecto de bonificación de la multivalencia, 98, 99, 99*f*
    fuerzas, 94
    reversibilidad, 94, 94*f*, 96*f*
Antiglobulinas, 491
Antisuero
  avidez para el antígeno, 98
  contenido de anticuerpos, 119
  especificidad, 100, 101
  reactividad, 99*f*, 100
  título de anticuerpos, 119
Apéndice, 171
Apoptosis, 6, 19, 19*f*, 152
Arilsulfatasa B, 20
Arteritis transitoria, 501
Artritis
  adyuvante, 496
  inducida por colágeno, 496
  reactivo, 465, 496
  reumatoidea, 458*c*, 459*c*
    asociación HLA, 420
    defecto de la retroalimentación suprarrenal, 464*f*
    patogenia, 490*f*, 491, 495*f*
Ascaris, 312
Asma, 61, 372
  ocupacional, 372
Aspergilosis broncopulmonar alérgica, 385
Ataxia telangiectasia, 354
Atenuación, 325
  métodos clásicos, 325
  por tecnología de DNA recombinante, 325

Autoanticuerpos, 32, 125*f*
  en enfermedades humanas, 456, 458*c*, 459*c*
  pruebas y diagnóstico, 502, 503*c*
  tiroideos, 454, 456
Autoantígeno, 461, 468
  efectos patogénicos de complejos con, 487
Autoantiidiotipos, 235*f*
Autoasociación, 492
Autoinjertos, 400*f*, 413, 414
Autotolerancia
  descubrimiento de, 33
  inducción en las células T, 259
  mecanismos de, 273*f*
Avidez, 471
  del antisuero por el antígeno, 98
Avidina, 127, 144
Azatioprina, 411*f*
  después de trasplante, 360

B

Bacillus anthracis, infección por, 295
Bacilo de Calmette-Guérin, 9, 325, 338
Bacterias, 2
  cápsula, 286, 291, 295
  desafío para el sistema del complemento, 287, 288*f*
  estrategias de supervivencia, 286
  estructura de la pared celular, 287*f*
  evasión de la fagocitosis, 286
  exotoxinas, 287
  gramnegativas, 292, 394
  grampositivas, 287
  intracelulares, 297
  opsonización, 289, 291
  piógenas, 4
  respuesta del huésped contra, 289
  variación antigénica, 288
Bactericidinas, 274, 356
Basófilos, 5*f*
Bazo, 171, 172*f*
BCG. Véase *Bacilo de Calmette-Guérin*
Beta$_2$-microglobulina, 78, 80*f*, 105
Biblioteca combinatoria, 137, 137*f*
Biolística, 343
Biotina, 127
Bloqueo cardíaco congénito, 487
Bordetella pertussis, vacuna, 337*c*
Brucella, especies de, 297, 495
Bradicinina en la respuesta inflamatoria aguda, 283
5-Bromodesoxiuridina (BUDR), 143

C

C1 inhibidor, 349
C1q, 25, 52
C1r, 25
C2, 25
C3, 11, 13
  convertasa, 11*f*, 25
  factor nefrítico, 394
  mecanismo de clivaje, 11, 25
C3a, 13, 52
C3b, 12, 14, 16*f*
  niveles de control, 11, 11*f*
C3bBb, 11, 13, 16*f*, 24*f*, 287, 303
  activación, 11
C3bH, 12
C3i, 11
C4, 24*f*, 52
C4a, 25
C4b, 24*f*, 25, 52, 287
C4b2a, 24*f*, 25, 287, 303
C4bp, 25
C5, 12, 272
C5a, 12, 16*f*, 52
  en la respuesta inflamatoria aguda, 14, 283
C5b, 12
C7, 1
C8, 12
C9, 12, 19
Cadenas
  livianas, 44, 45
  pesadas, 44, 44*f*
    variabilidad, 44*f*
Caderina E, 173
Calcineurina, 156, 186
CALLA, 436
Calmodulina, 186
Calnexina, 105
Calorías proteicas, desnutrición de, efectos en la respuesta inmune adquirida, 244
cAMP, 15*f*, 393
Candida albicans, 2, 354
  fagocitosis de, 8*f*
Cápsula, 286, 291, 295
Cartílago, injerto de, 415
Caspasas, 19, 228
Catepsina G, 4*f*, 10
CCDA. Véase *Citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos*
CD, marcadores, 164*c*
  CD1, 86, 111, 164*c*, 176
  CD2, 164*c*
  CD3, 70, 71, 164*c*
    en la diferenciación de células T, 70
  CD4
    como el marcador de células T helper, 207*f*
    depleción de células T en SIDA, 360
    en la diferenciación de células T, 254, 255*f*
    en la infección por HIV, 359
  CD8, 164*c*, 177
    como marcador de células T citotóxicas, 211
    en la diferenciación de células T, 254, 255*f*
  CD14, 6, 7, 177
  CD19, 164*c*
  CD21, en la diferenciación de células B, 216
  CD23, 164*c*
    en centros germinales, 214*f*
  CD25, 164*c*, 231, 408
  CD28, 164*c*

- CD, marcadores (cont.)
  - CD40, 164*c*, 195, 213, 443
  - CD40L, 195, 213, 354
  - CD44, en tumores, 432
  - CD45, 437
  - CD45RA, 146*f*, 164*c*, 221
  - CD45RO, 146*f*, 164*c*, 221
  - CD54, 214*f*
  - CD77, 214*f*
  - CD80, 164*c*, 231
  - CD86, 231
- Célula(s)
  - B / linfocitos, 27, 55*c*, 61*f*
    - activación, 194
    - cambios en la clase de inmunoglobulina en, 216
    - deficiencia primaria, 351
    - desarrollo de especificidad, 268
    - diferenciación, 265
    - evolución de linajes, 276
    - papel de las citocinas en la proliferación y maduración, 213
    - receptor, 69
      - amplificación de diversidad, 71, 72*c*, 75
    - receptores de superficie, 65
    - reconocimiento del antígeno por las subpoblaciones B1 y B2, 267
    - reordenamientos génicos, 269*f*
    - tolerancia, 271
  - cebadas, 5*f*, 13*f*, 55*c*, 61*f*
    - activación, 16*f*, 372*f*
    - en el asma, 372
    - comparación de tipos, 368*c*
    - en la hipersensibilidad anafiláctica, 367
    - en la respuesta inflamatoria aguda, 13, 15*f*
  - dendríticas
    - foliculares (FDC), 179, 214*f*, 313
      - encefalopatías espongiformes transmisibles, 313
      - presentación del antígeno, 179, 444
    - interdigitantes (IDC), presentación del antígeno por, 176, 178*f*
  - K, 379, 382
  - de Langerhans, 176, 392
  - M, 179*f*, 180
  - madre
    - embrionaria, en el desarrollo de animales transgénicos, 157, 158
    - hematopoyética, 249
    - maduración en el timo, 251
  - de memoria, 31*f*, 171, 220, 221*f*
    - bases celulares para la generación, 31*f*
    - células B, 214
    - inducción por la vacuna de DNA, 330
  - natural killer (NK), 19, 54, 55*c*, 61*f*, 77, 113
    - actividad citotóxica, 77, 434
    - en las infecciones virales intracelulares, 19, 305
    - ontogenia, 273
    - receptores, 77
  - NK. Véase *Células natural killer*
  - nodrizas, 251
  - plasmáticas, 26, 27*f*, 28*f*, 29*f*
  - presentadoras de antígenos, 341, 466
    - células dendríticas
      - foliculares como, 179
      - interdigitantes como, 176
    - interacción con células T, 184
    - macrófagos como, 176
  - de Reed-Sternberg, 437, 438*f*
  - que secretan anticuerpos, cuantificación, 152, 154*f*
  - supresoras naturales, 232
  - T, 33, 61*f*
    - alfa beta, 256
    - anergia, 262
    - citotóxicas, 212*f*
      - CD8 como marcador, 211
      - clones
        - Tc1, 207
        - Tc2, 207
      - control de, 189
      - generación, 211
      - en la infección viral intracelular, 34, 305
      - de memoria, 324
      - transferencia adoptiva, 30, 322
    - deficiencia primaria, 352
    - diferenciación, en el timo, 251, 255*f*
    - evolución de linajes, 276
    - extratímicas, 262
    - helper, 34, 101, 192
      - en la activación de células B, 195
      - y enfermedad autoinmune, 469
      - patrones de citocinas, 204
      - en la regulación
        - de células T, 229
        - de la respuesta inmune adquirida, 229
      - Th1 y Th2, 205, 205*c*, 374, 392*f*
    - hibridomas, 144
    - en la infección
      - bacteriana intracelular, 297, 298
      - parasitaria, 310
    - interacción con las células presentadoras de antígenos, 184
    - killer, 102*f*, 103*f*, 206, 211
    - de memoria, 220, 221*f*
    - NK, 119
    - ontogenia, 254
    - programadas, 333
    - proliferación en la respuesta de citocinas, 207
    - receptores de superficie, 67
    - reconocimiento del antígeno, 100, 115
    - en la regulación de la respuesta inmune adquirida, 229
    - repertorio defectuoso, 240
    - en reposo, 185*f*, 333, 442
    - restricción de la reactividad por el CMH, 102*f*
    - señales de activación, 184, 187, 188*f*
    - supresoras, 229, 230*f*, 241
    - en el timo, 24*f*, 251, 257
    - tolerancia, 258
- Centro germinal, 169, 213, 214*f*
- Centroblastos, 213
- Centrocitos, 213

- Ceruloplasmina, 17*c*
- Cesación celular, 165
- Cetirizina, 378
- Ciclofosfamida, 409
- Ciclosporina
  - A
    - en enfermedades autoinmunes, 505
    - en la prevención del rechazo de injerto, 409, 410*f*
  - G, 415
- Cinc, deficiencia, 245
- Cirrosis biliar primaria, 455
- Citocina(s), 34, 78
  - como adyuvantes, 341
  - como mensajeros intercelulares, 199
  - duración y espectro de acción, 199
  - en el embarazo, 422
  - y enfermedad autoinmune, 477
  - estructuras, 200
  - inducida relacionada por la activación del TNF (TRANCE), 178
  - en la infección viral intracelular, 211, 307
  - interacciones de la red, 205, 206*f*
  - múltiples efectos, 203
  - origen y funciones, 201*c*
  - en la proliferación y maduración de células B, 213, 213*f*
  - en las respuestas inflamatorias crónicas, 208, 209*f*
- Citocromo (cit)
  - b_{245} oxidasa, deficiencias en el sistema, 348
  - b_{558}, 4, 7, 347
- Citofluorometría de flujo, 147, 149*f*
- Citolisina, 19
- Citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (CCDA), 35, 56, 77, 379, 380*f*
  - en las infecciones
    - bacterianas, 294
    - parasitarias, 308
- Clasificador celular activado por fluorescencia (FACS), 145, 146
- Clonación, 414, 414*f*
- Clorpromazina, efectos adversos, 383
- Cls, 25
- CMH. Véase *Complejo mayor de histocompatibilidad*
- Coagulación intravascular diseminada, 394
- Coágulo de fibrina, 283
- Colectinas, 291
- Cólera, 296
  - vacuna, 337*c*, 340
- Coley, toxina de, 442
- Colitis ulcerosa, 391, 458*c*
- Complejo(s)
  - de ataque de membrana, 12, 19, 25, 349
  - inmunes
    - depósitos, 387
    - detección de su formación, 127
    - reacciones de hipersensibilidad mediadas por, 383
    - Véase también *Anticuerpo; unión al antígeno*
  - mayor de histocompatibilidad (CMH), 34, 78
    - descubrimiento, 78
    - funciones, 85
    - herencia, 83
    - interacción con superantígenos, 115*f*
    - mapas génicos, 79, 81, 82*f*, 83*f*
    - moléculas clase I, 35, 78, 80*f*
      - clásicas, 81
      - complejo peptídico, 108, 109*c*, 109*f*
      - distribución en los tejidos, 85
      - estructura, 80*f*, 85*f*
      - procesamiento y presentación del antígeno, 103, 105*f*
    - moléculas clase II, 34
      - cadena invariante, 106
      - complejo peptídico, 108, 109*f*
      - deficiencia, 353
      - distribución en los tejidos, 85
      - estructura, 80*f*
      - procesamiento y presentación del antígeno, 105, 106*f*
    - moléculas clase III, 78
    - no clásico o relacionado con la clase I, 81, 86
    - nomenclatura, 83
    - polimorfismo, 81, 85
    - ranuras, 107
    - restricción
      - de células T supresoras, 229, 230*f*
      - de la reactividad de células T, 100
  - relacionado con el SIDA, 357
- Complemento, 10
  - activación, 10
    - diversión de, 295
    - vía alternativa, 11*f*, 16*f*, 24*f*
    - vía clásica, 10*f*, 23, 24*f*
  - cubierta, 292*f*
  - deficiencias, 349
  - evasión del sistema por bacterias, 286
  - y formación de complejos inmunes, 226
  - funciones biológicas, 13
  - en la opsonización, 291
  - proteínas del sistema, 25
  - receptores, 292
  - en la respuesta inflamatoria aguda, 13
- Componente amiloide P sérico, 17*c*
- Compuestos de aluminio como adyuvantes, 329, 341
- Condroitinsulfato A, 17, 20
- Conglutinina, 18, 291
- Conjuntivitis, 372
- Constante
  - de afinidad, 96, 119
  - de disociación, 96
  - de equilibrio, 96
- Coombs, prueba de, 382*f*
- Corea
  - de Huntington, 418
  - de Sydenham, 471
- Córnea, injerto de, 415
- Corrección del receptor, 73, 74
- Corticosteroides, en el tratamiento de las reacciones de hipersensibilidad tipo I, 378
- Coxsackievirus, 303
- CR1, 292

CR3, 292
CR4, 292
CR5, 292
Cromatografía de afinidad, 139
Cromoglicato de sodio, 373, 377*f*, 378
Cryptococcus neoformans, 307
Cuerpos teñibles, 169

D

Daclizumbab, 408
Defensinas, 4, 8*f*, 9, 14, 293, 322
Deficiencia
  de adenosina desaminasa, 355
  de la adhesión de los leucocitos, 348
Dehidroepiandrosterona, 243
Densidad de flotación, 143
Der p1, 370
Dermatitis
  atópica, 372, 375
  por contacto, 389, 392, 393*f*
Desequilibrio de la unión, 419, 420*f*
Desnutrición
  de calorías proteicas, efectos en la respuesta inmune adquirida, 244
  efectos en la respuesta inmune adquirida, 244
Desplazamiento antigénico, 302, 302*f*
Destrucción extracelular, 19, 19*f*
Diabetes mellitus, insulinodependiente
  asociación con el HLA, 419
  estudio en gemelos, 457, 464
  patogenia, 497
Diapédesis, 168, 282, 284*f*
Dieta, efectos en la respuesta inmune adquirida, 244
Difteria, efecto de la inmunización sobre la notificación de, 322*f*
Dinitrofenol, 41, 95, 98*f*, 192
Disgenesia reticular, 355
DNA bicatenario, 487
DNP. Véase *Dinitrofenol*

E

Echovirus, 303
Edelman, Gerald, 42
Efecto de bonificación de la multivalencia, 26, 56, 98, 99, 99*f*
Ehrlich, Paul, 29
Ejercicio, efecto en la respuesta inmune adquirida, 245
Elastasa, 4
Electroforesis, 127, 128*f*
  en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato de sodio (SDS-PAGE), 129
Elementos
  P, 47*f*, 73*f*
  de restricción, 111
ELISA, 122, 123*f*, 126
ELISPOT, técnica, 151, 154, 155*f*, 205
Encefalitis de Rasmussen, 485
Encefalomielitis alérgica experimental (EAE), 242, 499, 500*f*
Encefalopatías espongiformes transmisibles, 313
Endotelio con pared alta de las vénulas poscapilares (HEV), pasaje de linfocitos, 165
Endotoxina, 6, 7
Enfermedad(es)
  de Addison, 456, 458*c*
  de los aficionados de palomas, 384
  autoinmune(s), 36, 453, 480, 483
    alcance, 453
    y desviación
      de las células T helper, 469
      de los mecanismos regulatorios, 475
    espectro, 453
    estudios en gemelos, 457, 464
    factores
      genéticos, 457
      medioambientales, 464
    inducida por antígenos, 467
    influencias del sexo, 463, 463*f*
    modelos animales, 457
    multifactorial, 479
    organoespecífica y no organoespecífica, 454, 467
    patogenia, autoanticuerpos humorales, 463, 483
    superposición, 456
    tratamiento, 502
  de la cadena pesada, 440
  celíaca, 393, 486
  de Chagas, 314, 471, 485
  de Chediak-Higashi, 348
  por complejos inmunes, 421
  de Creutzfeldt-Jakob, nueva variante, 313
  de Crohn, 391, 465
  de los descortezadores de arce, 385
  granulomatosa crónica, 347, 348*f*, 391
  de Graves, 455, 458*c*, 463*f*, 484
  hemolítica del recién nacido, 381*f*
  de Hodgkin, 437
  inflamatoria intestinal, 391
  de Marek, 442
  de Whipple, 465
Ensayos de unión de ligandos, 132
Envejecimiento, efectos en la respuesta inmune adquirida, 245*f*
Eosinófilos, 20, 55*c*, 61*f*
  en el asma, 372
  en las infecciones parasitarias, 309, 310*f*
Eotaxina, 285
Epítopo, 90
  célula B, 90, 91*f*, 131
    en el desarrollo de vacunas, 332
    identificación, 90, 93
    reacciones cruzadas con, 471
  célula T, 131, 302
    en el desarrollo de vacunas, 332

    - eslabón entre supresora y helper, 230
    - mimetismo molecular de, 471, 473*c*
    - transporte a cuestas, 473
  - complementariedad espacial con el parátopo, 93
  - continuo y discontinuo, 90
  - críptico u oculto, 109, 225, 471
  - cúmulos dominantes, 90, 109, 225
  - helper, 230
  - mapeo, 131
  - supresor, 230
  - vacunas específicas, 331
- Epstein-Barr, virus, 136, 303, 357, 442, 474
- Eritema nudoso en la lepra, 386
- *Escherichia coli*, infección, 114, 342*f*, 471
- Esclerodermia, 501
- Esclerosis en placas, patogenia, 458*c*, 499
- Especies
  - de *Salmonella*, infección por, 9, 114, 295, 496
  - de *Streptococcus*, infección por, 287
- Esperma, crioconservación, 418
- Espondilitis anquilosante, 421
- Esquistosomiasis, 308*f*, 311
  - desarrollo de vacuna, 340
- Estimulador de tiroides de acción prolongada, 455
- Estrategia de programación y refuerzo, 330
- Estreptavidina, 127
- Estrógeno, 243
- Exclusión alélica, 256, 270
  - importancia de, 269*f*, 270
- Exotoxinas, 287, 294
- Expresión codominante del CMH, 84

F

- FACS. Véase *Clasificador celular activado por fluorescencia*
- Factor(es)
  - activador de plaquetas en la respuesta inflamatoria aguda, 15*f*, 283*f*, 284*f*
  - activadores de macrófagos, 33, 209
  - B, 17
  - bactericida y de permeabilidad (BPI), 9
  - de células madre, 250, 443
  - de crecimiento
    - del endotelio vascular, 444
    - en transformación beta. Véase TGF-beta
  - D, 11
  - estimulante de colonias
    - de granulocitos. Véase *G-CSF*
      - macrófagos. Véase *GM-CSF*
    - de macrófagos. Véase *M-CSF*
  - genéticos
    - en la alergia atópica, 375
    - en la enfermedad autoinmune, 457
    - en la respuesta inmune adquirida, 238
  - de Hageman, 283
  - inhibidor de leucemia (LIF), fuente y función, 201*c*
  - de necrosis tumoral (TNF), 78, 138
    - receptores, 202
    - en la terapéutica del cáncer, 441
    - TNF-alfa, 20
      - fuente y función, 201*c*
      - en la respuesta inflamatoria aguda, 282, 283*f*
    - TNF-beta
      - actividad antiviral, 211
      - fuente y función, 201*c*
  - reumatoideos, 124, 439, 491
  - tímico humoral, 251
  - de transferencia de Lawrence, 390
- Fagocitosis, 2, 3, 8*f*, 9
  - células involucradas, 2
    - defectos, 347
  - evasión por las bacterias, 286, 297*f*
  - frustrada, 384
  - en los invertebrados, 274
  - mecanismos, 9
- Fagolisosoma, formación del, 8*f*
- Familia JAK, 203, 303
- Fármacos
  - antiinflamatorios en enfermedades autoinmunes, 505
  - inmunosupresores, 408
  - reacción(es)
    - anafiláctica, 373
    - tipo II frente a, 382
- *fas*, 477
- Fas y FasL, 20
- FDC. Véase *Células dendríticas foliculares*
- Fenacetina, efectos adversos, 383
- Feto
  - como aloinjerto, 421, 422*f*
  - hígado, diferenciación de células B en, 265
- Fibrinógeno, 17
- Fibroblastos reactivos de la estroma en el carcinoma, 431
- Fibronectina, 17*c*, 355
- Fiebre
  - familiar del Mediterráneo, 349, 439
  - del heno, 61, 370
  - reumática, 294
- FK-506. Véase *Tacrolimus*
- FKBP12, 411
- Folículos
  - primarios, 169
  - secundarios, 169
- Formación del fagolisosoma, 8*f*
- Formoterol, 378
- *fos*, 435
- Fosfatasas alcalinas, 126
- Fosfatidilinositol 3-cinasa, 186
- Fosfolipasa
  - C, 186, 203
  - D, 20
- Fragmento
  - Fab, 41, 42, 53*f*, 70*f*, 92*f*, 140
  - Fc, 42, 52
- Fuerzas, en los complejos antígeno-anticuerpo
  - electrostáticas, 94, 96*f*
  - de Van der Waals, 95, 97*f*

G

- G-CSF, 309
  - fuente y función, 201*c*
- Ganglios linfáticos, 165, 170*f*
  - áreas de células
    - B, 169
    - T, 171
  - capsulados, 169
- Gastritis atrófica autoinmune, 485
- Gen(es)
  - de autoinmunidad, 461
  - conversión, 83
  - expresión, 150, 151*f*, 322
  - *Ir*, 239
  - *N-ramp*, 9
  - *Pax5*, 266, 267*f*
  - de progresión del ciclo celular, 435
  - *Rag-1*, 45, 71, 73, 255
  - *Rag-2*, 45, 71, 73, 255
  - silencioso, expresión en los tumores, 429
  - de tirosina cinasa de Bruton (Btk), 351, 371*f*
  - V, 69, 69*f*
    - y amplificación de la diversidad del receptor, 72*c*
    - mutación somática, 75
    - reordenamiento, 71, 74*f*
- Genoma alfaviral, 330
- GenTAP, 105, 160*c*
- Globulinas
  - equinas, 319, 321
  - transportadoras, 267
- Glomerulonefritis
  - complejos inmunes, 387, 387*f*
  - en el síndrome de Goodpasture, 383*f*
  - transferencia pasiva, 487*f*
- Glucocorticoides
  - influencia en la respuesta inmune, 242, 243*f*
  - en la regulación de la inflamación, 286
- Glucosilfosfatidilinositol (GPI), 56
- GM-CSF, 441
  - fuente y función, 201*c*
  - propiedades como adyuvante, 342
- Gonadotrofina coriónica humana, 423
- Gorer, Peter, 79
- Gránulo(s)
  - azurófilo primario, 4, 5*f*
  - específico secundario, 4
  - líticos, 212
- Granuloma, 286
- Granulomatosis de Wegener, 458*c*, 499
- Granzimas, 20
- Grupos
  - Gm, 48
  - sanguíneos
    - AB0, 380
    - sanguíneos rhesus, 381

H

- HAART. Véase *Terapéutica antirretroviral altamente activa*
- *Haemophilus influenzae*, infección por, 295, 351
- HAMA, 136, 136*f*
- Haplotipo, 83, 84
  - restricción, 100
  - segregación, 84
- Hapteno, 90
  - relación física con el portador, 192
  - variación en la estructura, 92
- Haptoglobina, 17*c*
- hCG, 423
- Helmintos, 2, 311
  - infección por, 20, 308
- Hematoidina, 5*f*
- Hematopoyesis, 251*f*
  - papel de las citocinas en, 204*f*
- Hematopoyetina, receptores para, 200, 202*f*
- Hemoglobinuria paroxística nocturna, 350*f*, 394
- Hepatitis B, 302
  - vacunación, 326*f*, 337*c*
- Herpesvirus, 303, 306
- Hibridoma, 133
  - célula T, 144
- Hígado
  - fetal, diferenciación de células B en, 265
  - trasplantes, 416
- Hipersensibilidad
  - anafiláctica, 367
    - alergia atópica, 370
  - basófila cutánea, 390
  - citotóxica dependiente de anticuerpos, 77, 379, 379*f*
    - reacciones
      - aloinmunes, 380
      - autoinmunes, 382
- Hipogammaglobulinemia, transitoria de la lactancia, 352
- Histamina
  - en anafilaxia, 367
  - antagonistas, 378
  - en la respuesta inflamatoria aguda, 15*f*, 283*f*
- Histaminasa, 20
- HIV. Véase *Virus de la inmunodeficiencia humana*
- HLA
  - sistema
    - asociaciones con enfermedades, 419, 462*f*
    - HLA
      - A, 80*f*, 102*f*
      - B, 419*c*
      - C, 419*c*
      - D y tipificación de tejidos, 405
      - DP, 419*c*
      - DQ, 419*c*
      - DR, 419*c*
        - codificación de genes, 78
      - E, 86
      - F, 86

      - G, 86
    - HLE, 86
    - polimorfismo, 406, 407*f*
    - y tipificación tisular, 405, 408*f*
    - Véase también *Complejo mayor de histocompatibilidad*
  - supertipos, 333
- Homoinjerto. Véase *Aloinjerto*
- Homúnculos inmunológicos, 234, 334, 499
- Hongos, 2
  - inmunidad contra, 307
- Hormona liberadora de hormona luteinizante, 423

I

- iC3b, 12
- ICAM
  - 1. Véase *Molécula de adhesión intercelular 1*
  - 2. Véase *Molécula de adhesión intercelular 2*
- Icosomas, 179
- IDC. Véase *Células dendríticas interdigitantes*
- IDDM. Véase *Diabetes mellitus, insulinodependiente*
- Idiotipos, 48, 443
  - cascada, 236, 237
  - como vacunas específicas de epítopos, 334
  - en enfermedades autoinimunes, 468
  - manipulación de la respuesta inmune a través de, 237*f*
  - privados, 48
  - públicos, 49
  - de reacción cruzada, 49, 473
  - redes de, 233
  - en la regulación de respuestas inmunes, 235
  - en el tratamiento de enfermedades autoimmunes, 508
- IDSC. Véase *Inmunodeficiencia combinada grave*
- Immunización. Véase *Vacunación*
- Immunoblot (inmunotransferencia), 130, 361
- Imprimación cruzada, 107
- Infarto de miocardio, 349
- Infección
  - bacteriana, 286
    - extracelular, 286
    - intracelular, 297
  - barreras contra, 1, 2
  - por citomegalovirus, 303, 305, 357*f*
  - estrategias de los adversarios durante, 28
  - parasitaria, 307
  - proteínas de la fase aguda en, 17
  - por protozoos, 2, 309*f*
  - viral, 232
    - inmunidad contra, 300
    - respuesta
      - de células NK, 305
      - de citocinas contra la, 34, 35*f*
- Infertilidad masculina, 486
- Inflamación, 281
  - crónica, 286
    - en curso, 283
    - regulación y resolución, 213, 286
  - respuesta inflamatoria aguda, 14, 25
    - iniciación, 13, 282
    - mediadores, 14, 282, 283*f*
    - en las reacciones de hipersensibilidad tipo III, 384
- Influenza
  - epidemias y y variaciones y desplazamiento antigénico, 187*f*
  - vacunas, 329
- Ingeniería genética
  - anticuerpos, 322
  - células, 157
  - en el desarrollo de vacunas, 324
- Injertos, 382, 399
  - control genético de antígenos, 399, 401
  - experiencia clínica, 415
  - rechazo, 36
    - agudo
      - temprano, 405
      - tardío, 405*f*
    - antígenos involucrados, 399
    - bases inmunológicas, 400
    - conjunto primero y segundo, 400
    - hiperagudo, 405, 413
    - e incompatibilidad del CMH, 402
    - insidioso tardío, 405
    - mecanismos, 403
    - papel de los anticuerpos humorales, 404
    - prevención, 405
  - renales, 415
  - sitios privilegiados, 415
  - de tejido nervioso, 418
- Inmunidad
  - adquirida en forma pasiva contra la infección, 319
  - de la comunidad, 322
  - concomitante, 308
  - humoral, 28, 207*f*, 308. Véase también *Anticuerpos*
    - adquirida, 28
    - mecanismos innatos, 14
  - innata, 1, 433
    - deficiencias de, 347
  - mediada por células (CMI), 33, 207*f*
    - efectores de células T en, 208
    - en las infecciones
      - bacterianas intracelulares, 297
      - parasitarias, 309, 310*f*
      - virales intracelulares, 305
- Inmunización
  - inversa, 335
  - vías directas de, 404
- Inmunoconglutinina, 291
- Inmunodeficiencia, 36, 347. Véase también *SIDA*
  - combinada, 354, 354*f*
    - grave, 155, 160, 231, 251, 354*f*
  - común variable, 351
  - primaria, 351
  - reconocimiento de, 356
  - secundaria, 356, 439, 440
- Inmunodifusión radial simple, 128, 128*f*
- Inmunoelecroforesis, contracorriente, 121, 122*f*

- Inmunoensayo
  - de antígenos, 125, 126*f*
  - fase sólida, 126*f*
- Inmunofijación, 127, 128*f*
- Inmunofilinas, 410
- Inmunofluorescencia
  - prueba del sandwich, 152
  - técnicas, 144
- Inmunógeno, 89
- Inmunoglobulinas
  - alotipos, 48
  - cambio de clase en las células B, 215, 216
  - clases, 50
  - cubiertas, 292*f*
  - dominios, 49
  - estructura básica, 42
  - genes, 48
    - reordenamientos durante la diferenciación de las células B, 268
    - superfamilia, 277
  - idiotipos, 48, 48*f*
  - Ig-α, 66
  - Ig-β, 66
  - IgA, 58
    - deficiencia, 351
    - en la leche humana, 58, 321
    - propiedades
      - biológicas, 54*c*
      - físicas, 54*c*
    - en la protección de la mucosa externa, 58
    - en el recién nacido, 319
    - secretora, 58*f*
    - subclases, 62
  - IgD, 60
    - propiedades
      - biológicas, 54*c*
      - físicas, 54*c*
  - IgE, 60
    - activación por parásitos, 311
    - en la anafilaxia, 367, 370*f*
    - estructura, 60, 61*f*, 369
    - en las infecciones parasitarias, 311
    - papel fisiológico, 61
    - propiedades
      - biológicas, 54*c*
      - físicas, 54*c*
    - en reacciones inflamatorias, 60
    - receptores de superficie, 61*f*
  - IgG, 41, 50, 120*f*
    - en la activación de la vía clásica del complemento, 52
    - antiglobulinas, 491
    - dominios, 51*f*, 53*f*
    - glucosilación en la artritis reumatoidea, 492
    - propiedades
      - biológicas, 54*c*
      - físicas, 54*c*
    - síntesis, 217*f*
    - subclases, 62, 62*c*
    - univalente, 57
  - IgM
    - en la bacteriemia, 59
    - estructura, 59
    - expresión por las células B, 65
    - monomérica, 59
    - propiedades
      - biológicas, 54*c*
      - físicas, 54*c*
  - isotipos, 45
  - plegamientos, 277
  - propiedades
    - biológicas, 54*c*
    - físicas
  - síntesis, 215*f*, 217*f*
  - subclases, 50
  - variabilidad de la secuencia de aminoácidos, 41, 43
  - variantes estructurales, 45
- Inmunohistoquímica, 144
- Inmunolgía reproductiva, 421
- Inmunopatología, 35
- Inmunoproteosoma, 105
- Inmunoterapia en el cáncer, 440
- INOS, 9
- Integrinas
  - superfamilia, 167*c*, 168
  - en el timo, 277
- Intensificación, 404
- Interferencia viral, 303
- Interferones, 18, 304
  - IFN-α
    - fuente y función, 201*c*
    - en la terapéutica del cáncer, 441
  - IFN-β, en la terapéutica del cáncer, 441
  - IFN-γ, 35
    - fuente y función, 201*c*
    - en las infecciones virales, 35
  - receptores, 200
- Interleucinas
  - IL
    - 1
      - fuente y función, 201*c*
      - en la respuesta inflamatoria aguda, 282, 283*f*
    - 2
      - fuente y función, 201*c*
      - y proliferación de células T, 207
      - propiedades adyuvantes, 342
      - receptores, 207
      - transcripción en la activación de células T, 186, 187
    - 3, fuente y función, 201*c*
    - 4
      - fuente y función, 201*c*
      - y proliferación de células T, 207
    - 5, fuente y función, 201*c*
    - 6, 17
      - fuente y función, 201*c*
      - y proliferación de células T, 207

    - 7, fuente y función, 201*c*
    - 8
        - fuente y función, 201*c*
        - en la respuesta inflamatoria aguda, 283*f*
    - 9
        - fuente y función, 201*c*
        - origen y función, 201*c*
    - 10
        - fuente y función, 201*c*
        - en la regulación de la inflamación, 286
    - 11, fuente y función, 201*c*
    - 12, fuente y función, 201*c*
    - 13, fuente y función, 201*c*
- Intermediarios reactivos
    - del nitrógeno, 7, 9*f*
    - del oxígeno (ROI), 6, 9*f*, 433
- Intestino delgado, 171
- Invertebrados, mecanismos de defensa microbianos, 274
- Iscoms, 343
- Isohemaglutininas, 60, 380
- ITAM, 56, 67, 71, 77*f*, 369
- ITIM, 56, 77*f*

J

- Jenner, Edward, 33, 320
- Jerne, hipótesis de la red de, 233
- Jones-Mote, sensibilidad de, 390

K

- Kaposi, sarcoma de, 357, 441

L

- *Lactobacillus lactis*, 495
- Lactoferrina, 10, 15
- Lactoperoxidasa, 1
- *lacZ*, 151
- Lágrimas, 1, 293
- Lámina propia, 171
- Lamprea
    - de California, respuestas inmunes, 275
    - respuesta inmune, 275
- Lavadores de queso, 385
- Lck, 185
- Leishmaniasis, estrategias de evasión del parásito, 309, 312
- Lepra, 300
    - lepromatosa, 300
    - tuberculoide, 300
- LES. Véase *Lupus eritematoso sistémico*
- Leucemia(s)
    - diagnóstico inmunohistológico, 436
    - linfoblástica aguda, 436
    - tratamiento, 445
    - Véase también *Trastornos linfoproliferativos*
- Leucocitos
    - adherencia, 143
    - aislamiento de subpoblaciones, 143
    - densidad de flotación, 143
    - unión a las células endoteliales en la inflamación, 282
    - velocidad de sedimentación, 143
- Leucotrieno
    - antagonistas de, 378
    - B4, en la respuesta inflamatoria aguda, 15*f*, 283*f*
    - C4, en la respuesta inflamatoria aguda, 15*f*, 283*f*
    - D4, en la respuesta inflamatoria aguda, 15*f*, 283*f*
- LFA
        - 1. Véase *Antígeno funcional linfocitario 1*
        - 3. Véase *Antígeno funcional linfocitario 3*
- LHRH. Véase *Hormona liberadora de la hormona luteinizante*
- Ligando inductor de la apoptosis relacionada con el TNF (TRAIL), 227
- Limulina, 17, 275
- Linfocitos
    - activación, 183
    - atrapamiento, 165
    - capacidad de respuesta, 150
    - efectos de los adyuvantes en, 341
    - evaluación de la capacidad de respuesta, 149*f*, 150, 151*f*
    - granulares grandes, 26
    - intestinales, 172
    - intraepiteliales, 173
    - papel en la producción de anticuerpos, 26, 28, 28*f*
    - pequeños, 26, 27*f*, 28*f*, 31
    - receptores guía, 167, 169*c*
    - en el rechazo de injertos, 402
    - tráfico entre los tejidos linfoides, 165, 166*f*
    - transferencia adoptiva, 30
    - transmigración, 167, 168*f*
    - ultraestructura, 28*f*
- Linfoma(s)
    - de Burkitt
        - asociación con paludismo, 313
        - gen *c-myc* en, 434
        - inmunodiagnóstico, 436
    - de células
        - centrofoliculares, 437
        - pequeñas clivadas, 437
    - diagnóstico inmunohistoquímico, 437
    - no Hodgkin, 437
    - de la zona del manto, 437
- Linfotoxina, 20, 78, 114
- Lipopolisacárido, 16*f*, 216, 241, 285
- Liposomas como presentadores del antígeno, 343
- Lisozima, 2, 4, 90*f*
- *Listeria monocytogenes*, 114, 206, 297, 301*f*
- LMP2, 82*f*
- LMP7, 82*f*
- Locus mayores de histocompatibilidad, 402
- LolPI-V, 370
- LoxP, 158

Lupus eritematoso
  discoide, 388, 458c
  sistémico (LES), 457, 458c, 464
    como un trastorno no organoespecífico, 455
    depósitos de complejos inmunes, 388f
    factores genéticos, 462
    patogenia, 487

M

M-CSF, fuente y función, 201c
Macrófagos, 2, 4, 55c, 61f, 102f
  activación, 209, 298f
    por adyuvantes, 342
  como células presentadoras de antígenos, 176
  destrucción intracelular por, 34, 297f
  en la respuesta inflamatoria aguda, 14
Macroglobulinemia de Waldenström, 357, 439
MAdCAM-1, 174f
MAGE-1, 429f
Mapeo génico, complejo mayor de histocompatibilidad, 81, 82f, 83f
Marcadores
  CD. Véase *CD, marcadores*
  de los cúmulos de diferenciación. Véase *CD, marcadores*
  tumorales, 448
MASP, 17, 24f
MBP. Véase *Proteína básica principal*
MCP. Véase *Proteína cofactor de membrana*
Mecanismos
  de control, 225
  de empalme diferencial, 65, 66
  de escape inmunológico, 432
Medawar, sir Peter, 400
Médula ósea
  anticuerpos, síntesis en, 175
  células madre, 251f, 261c
  detección de micrometástasis, 448
  diferenciación de células B en, 265
  injerto, 412, 416, 445f, 446f
Memoria adquirida, 29
  y vacunación, 33, 33f
Metchnikoff, Elie, 3
Metotrexato, 409
Miastenia grave, 383, 458c, 463f, 469, 484
Micrometástasis, 448
Microscopio confocal, 147, 148
Mieloma múltiple, 437
Mieloperoxidasa, 4
Mimótopos, 132
Minicuerpos, 139
Mixedema agudo, autoanticuerpos primarios, 456, 484
Molécula(s)
  de adhesión
    celular vascular molécula 1 (VCAM-1), 168, 208
    intercelular 1, 177, 184, 208, 214f, 302f
    intercelular 2, 177
  antisentido, 157
  de reconocimiento celular (CRM), 276
Monocitos, 5f, 55c, 61f
Monofosforil lípido A, 341
Mucosa externa, protección por el sistema inmune secretor, 292, 293f
Muerte celular inducida por activación (MCIA), 226
Multivalencia, efecto de bonificación de, 26
Muramil dipéptido (MDP), 341
myb, 435
Mycobacterium
  leprae, 242, 338
  tuberculosis, 243, 297, 298, 325
Mycoplasma
  arthritidis mitógeno (MAM), 114
  fermentans, 496

N

N-CAM, 277
Nefelometría
  en la detección de anticuerpos, 121
  en el ensayo de antígenos, 128, 130f
  proporcional, 129f
*Neisseria gonorrhoeae,*infección, 287, 288, 295, 350
Nematodos, infección por, 311, 311f
Neutrófilos, 2, 4, 5f, 8f, 16f, 55c, 61f
  evaluación de la función, 151c
  polimorfonucleares, 2, 4, 5f, 322
NFAT, 187
NFκB, 359
Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH), 7, 126
Nippostrongylus brasiliensis, 308, 312, 465
No-propio; discriminación de lo propio, 32

O

Opsoninas, 289
Opsonización, 17, 327
Orina, 1
Oro coloidal, 150
Óxido nítrico, 9f, 283f
  en la actividad leishmanicida del macrófago, 310

P

P3CSS, 343
Paludismo, 308, 313
  desarrollo de vacuna, 338, 339f
Panencefalitis esclerosante subaguda, 388
Parásitos
  estrategias evasivas por, 311
  inmunidad frente a la infección, 307
  inmunopatología, 313
  respuestas del huésped contra, 313
  variación antigénica, 312f

Parátopo, 90, 234*f*
  complementariedad espacial con el epitópo, 93
Partícula de reconocimiento de la señal, 215
Pasteur, Louis, 320
Patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP), 4, 6, 18*f*, 274, 289
Pecado antigénico original, 237, 331
Pénfigo
  foliáceo, 486
  vulgar, 458*c*, 486
Penicilina
  alergia, 373
  reacción de Jarisch-Herxheimer, 386
Pentraxinas, 17
Péptido
  de la cadena invariante asociada a la clase II (CLIP), 106
  intestinal vasoactivo (VIP), 283*f*
  marcador de infección, 116
Perforina, 19, 160*c*
Periarteritis nudosa, 384
Peroxidasa del rábano picante, 126
Placas de Peyer, 171, 173*f*, 270, 313
  células M en, 179*f*
Planticuerpos, 139
Plasmaféresis, 511
Plexo coroideo, depósito de complejos inmunes, 388
Pneumocystis carinii, 351, 357
Polímeros de aminoácidos, 510
Poliomielitis
  notificación, 324*f*
  vacunas
    con microorganismos muertos, 323
    respuesta local de IgA, 324*f*
Polivinilpirrolidona, 130
Pollos de cepa obesa, 461*c*, 467, 476
Porter, Rodney, 42
Posiciones de anclaje, 108, 109*f*
Prednisolona, en la prevención del rechazo de injerto, 411*f*
Principio del analito ambiental, 130
Procaspasas, 152
Productos génicos supresores del ciclo celular, 435
Profilaxis, 319
Prostaglandina E_2
  en la regulación de la inflamación, 286
    aguda, 283*f*
Proteína(s)
  activadora específica de las células B (BSAP), 265
  adaptadoras, 186
  A amiloide, 439
  básica principal, 375
  C reactiva, 17, 128
  cofactor de membrana (MCP), 303
  de control del complemento, 25
  de fase aguda, 17
  fluorescente verde, 149
  M
    estreptocócica, 294
    mieloma, 43, 440*f*
  de membrana asociadas al lisosoma (LAMP), 106
  de mieloma. Véase *Proteína M (mieloma)*
  PorB, 296
  del shock térmico, 430
  del síndrome de Wiskott-Aldrich (WASP), 353
  tirosincinasa (PTK), en la activación de células T, 185
  de unión a la manosa, 17, 17*c*, 291, 292*f*, 492*f*
Proteincinasa(s), 186
  activadas por mitógenos (MAPK), 186
Proteosoma, 104, 105*f*
Protooncogén *c-myc*, desregulación en los tumores de células B, 434
Protozoos, infección por, 2, 309*f*
Prueba de anticuerpos fluorescentes, 127, 147*f*, 460*f*
Psicoinmunología, 243
Psoriasis, 393, 499
PTK. Véase *Proteína tirosina cinasa*
Puentes disulfuro
  intercatenarios, 49
Pulmón
  del granjero, 385
  del peletero, 385
Purina nucleósido fosforilasa, 352
Púrpura trombocitopénica
  idiopática, 381, 456
  inducida por fármacos, 383

Q

Quimeras por radiación, 155
  prueba de radialergosorbente (RAST), 125, 376
  radioinmunoensayo, 155
Quimiocina(s), 209, 284
  derivada de macrófagos (MDC), 177
  receptores, 202*f*, 203, 210*c*
  regulada y activación por el timo (TARC), 178
  subfamilia
    C-C, 210*c*
    C-X-C, 210*c*
Quimioluminiscencia, 127
Quimiotaxis, 10, 209
Quinidina, efectos adversos, 383

R

Radicales hidroxilo, 7
RANTES, 359, 374
Rapamicina, 410
ras, 187*f*, 203
Ratones
  apolillado, 356
  de cepa pura, 157*f*
  diseñador, 157
  IDSC, 155, 251, 340
  New Zealand (NZB), 457, 476
  DNO, 457, 465, 467, 498, 498*f*
  noqueo
    por exclusión (knockout), 158, 265

Ratones (cont.)
        por inclusion (knocked in), 158
        Notch, 254
    NZB x W (híbrido), 457
Reacción(es)
    de aglutinación, 123, 124*f*
    de Arthus
        en la artritis reumatoidea, 386
        intrapulmonar, 384, 385
    de asociación, 96
    en cadena de la polimerasa, 405, 407*f*
    de Dick, 294
    de hipersensibilidad, 35*f*, 36, 367, 393
        innata, 394
        mediada por células, 389
        tipo
            I (anafiláctica), 367
            II (citotóxica dependiente de anticuerpos), 379, 379*f*
            III (mediada por complejos inmunes), 383
            IV (mediada por células o tipo retardado), 389
            retardada, 276
            V (estimulatoria), 393
    de injerto versus huésped, 402, 417
    de Jarisch-Herxheimer, 386
    de Kweim, 392
    de Mantoux, 389
    mixta de linfocitos, 402
    de precipitación, 120
    por transfusión, 380
Reactividad cruzada de antisueros, 100
Receptor(es)
    de células T, 34, 67, 68*f*
        amplificación de diversidad, 71, 72*c*, 75
        clases, 67
        codificación, 69
        complejo
            CD3 como parte integral, 71
            ternario con el CMH y el péptido antigénico, 110, 112*f*
        descubrimiento, 68
        genes, 68*f*, 69*f*, 76
        TCR1, 67, 69*f*, 113, 306
        TCR2, 67, 69*f*
            desarrollo, 256
    Fc
        γ
            recién nacido, 55*c*, 57
            RI, 55*c*, 56, 61*f*
            RII, 55*c*, 56, 176
            RIIA, 55*c*, 61*f*
            RIIB, 55*c*, 61*f*
            RIII, 55*c*, 56
        ξ RI, 176
            en la hipersensibilidad anafiláctica, 369*f*
    guía, 167, 168*f*
    poli-Ig, 58
    de reconocimiento de patrones (PRR), 6, 289
    de tirosina cinasa, 277
Recién nacido
    anticuerpos adquiridos por la madre, 273, 319, 321
    respuesta inmune en, 274
    timectomía en, 253, 475
    tirotoxicosis, 484*f*
    trombocitopenia aloinmune del recién nacido, 381
Recombinación
    homóloga, 158*f*
    de las secuencias de señal (RSS), 47*f*, 71, 74*f*
    VDJ, 45, 355
        y amplificación de la diversidad del receptor, 69, 69*f*, 72*c*, 74*f*, 75*f*
Rechazo
    de injerto agudo
        tardío, 405*f*
        temprano, 405
    de segunda clase, 400
    vascular agudo, 413
Región(es)
    C, 44
    determinantes de la complementariedad (CDR), 44, 50, 70*f*, 136
    de transmembrana hidrófobas, 65
    V, 44*f*, 46*f*
Replicación viral, inhibición por interferones, 18
Resistencia adquirida sistémica (SAR), 275
Resonancia plasmón de superficie, 124*f*
Respuesta
    inmune
        adquirida, 23
            activación de linfocitos, 26
            control neuroendocrino, 241
            y envejecimiento, 245*f*
            específica, 1, 25
            especificidad antigénica, 32
            evolución, 274
            factores genéticos en, 238, 241
            filogenia, 249
            ontogenia, 249
            primaria, 30
            producción de efectores, 199
            secundaria, 30
        primaria, 30
        secundaria, 30, 31
    inflamatoria aguda. Véase *Inflamación, respuesta inflamatoria aguda*
Ricino, 139
Rinitis alérgica, 372
Roncha y ertitema (alergia), 376

S

Saliva, 1, 293
Salmeterol, 378
Sarampión, 338, 356, 391
    vacunación contra, 324, 336
Sedormida, 383

- Segmentos génicos
  - D, 45, 69
    - y amplificación de la diversidad del receptor, 72*c*
    - reordenamiento, 71, 72, 73
  - J, 69
    - y amplificación de la diversidad del receptor, 72*c*
    - reordenamiento, 71, 73*f*, 74*f*
- Selección clonal, 29
- Selectina
  - E, 284
  - L, 167
- Semaforinas, 250, 303
- SIDA, 357
  - características clínicas, 357
  - control, 363
  - depleción de células T CD4 en, 360
  - diagnóstico, 361
  - factores que afectan la progresión, 361
  - historia natural, 359
- Sinapsis inmunológica, 189
- Síndrome(s)
  - antifosfolípido, 484
  - de dificultad respiratoria del adulto, 394
  - de DiGeorge, 352
  - de Duncan, 355
  - de Goodpasture, 383*f*, 458*c*, 464
    - patogenia, 487
    - plasmaféresis, 511
  - de Guillain-Barré, 485
  - de hiper-IgM KL, 354
  - del hombre tieso, 499
  - de inmunodeficiencia
    - adquirida. Véase *SIDA*
    - relacionados al cromosoma X, 351*f*
  - de Lambert-Eaton, 458*c*, 485
  - del linfocitos desnudo, 353
  - linfoproliferativo progresivo, 356
  - nefrótico, 388
  - de Nezelof, 352
  - de Omenn, 352, 355
  - periódico asociado con el receptor TNF (SPART), 349
  - de rotura
    - cromosómica, 353
    - de Nijmegen, 354
  - del shock
    - hemorrágico, 389
    - tóxico, 114, 294, 394
  - de Sjögren, 456, 459*c*
  - de Wiskott-Aldrich, 353, 432
- Sistema(s)
  - fagocítico mononuclear, 4, 6
  - H-2, 111
    - herencia, 83
    - nomenclatura, 83
    - Véase también *Complejo mayor de histocompatibilidad*
  - neuroendocrinos, interacción con los procesos inmunes, 241
  - de péptidos antigénicos múltiples, 334
- Sitios inmunológicos privilegiados, 175
- SLC, 167
- Snell, George, 79
- Sp
  - 1, 359
  - A, 15
  - D, 15
- *Staphylococcus aureus*, 1, 351
  - infección, 295
- STAT, 203, 411
- *Streptococcus*
  - beta-hemolítico, 294
  - *mutans*, 294
  - *pyogenes*, 294, 351
- Superantígenos, 114, 393, 471
- Superóxido dismutasa, 6, 418

T

- Tacrolimus, 186, 409*f*, 410
- TdT, 152
- Técnicas
  - celulares, 143
  - inmunoquímicas, 119
  - en placa en la cuantificación de células que secretan anticuerpos, 154, 155*f*
- Tecnología recombinante de DNA. Véase *Ingeniería genética*
- Tejido linfoide
  - anatomía y organización, 163, 164*f*, 165*f*
  - asociado a mucosas (MALT), 168, 171, 173*f*, 321
  - HIV en, 361
  - tráfico de linfocitos entre, 165, 166*f*
- Terapéutica
  - antirretroviral con fármacos altamente activa (HAART), 363
  - con DNA desnudo, 329, 338
  - del gen del suicidio, 445
  - inmunosupresora
    - después del trasplante, 407
    - en la enfermedad autoinmune, 505
  - de profármacos con enzimas dirigidas por anticuerpos (ADEPT), 135
  - triple, 415
- TGF-beta
  - fuente y función, 201*c*
  - y proliferación de células T, 208
  - receptores, 203
  - en la regulación de la inflamación, 286
- Thomson-Friedenreich, antígeno de, 448
- Timectomía, neonatal, 253, 276*c*, 475
- Timo, 34, 251
  - ausencia, 251
  - diferenciación de células T en, 251, 255*f*
  - función inmunológica, 253
  - inducción de la autotolerancia en, 259
  - selección de células T por la restricción del CMH propio, 257

- Timocitos
  - doble negativo, 254
  - doble positivo, 254
- Timopontina, 251
- Timopoyetina, 251
- Timulina, 251
- Tipificación de tejidos, 409
- Tiroiditis
  - autoinmune, 454, 497
  - de Hashimoto, 382*c*, 418, 458, 459*f*
    - bocio, 484
    - especificidad de órgano, 454, 457
    - patogenia, 484
- Tirotoxicosis, 484*f*
- Tolerancia
  - antigenoespecífica, 33, 412
  - infecciosa, 229, 412
  - inmunológica
    - descubrimiento de, 260
    - inducción en las células T, 258
- Toxinas, 16*f*, 114, 291
  - bacterianas, 114
- Toxoide, 328*f*
  - tetánico, 32
- *Toxoplasma gondii*, 309
- Transcriptasa inversa, 76, 359
- Transfección, 158, 443*f*
- Translocaciones cromosómicas en los trastornos linfoproliferativos, 435
- Transporte de lípidos, 185
- Trasplantes. Véase *Injertos*
  - cardíacos congénitos, 415, 416*f*
  - renales, 415
- Trastornos
  - autoinflamatorios, 349
  - linfoproliferativos
    - células B, 356
      - desregulación del protooncogén *c-myc*, 434
    - detención de la maduración y fenotipos celulares, 435
    - discrasias de células plasmáticas, 437
    - inmunodeficiencia secundaria, 440
    - ligados al cromosoma X, 354
    - translocaciones cromosómicas, 435
- Traumatismo, efecto en la respuesta inmune adquirida, 245
- *Trichinella spiralis*, 308
- Trifosfato
  - de desoxiuridina, 152
  - de inositol. Véase *IP3*
- Trombos, 282
- *Trypanosoma*
  - *brucei*, 312
  - *cruzi*, 309*f*, 331, 471
- Tuberculosis, 298
  - vacunación contra, 322, 337*c*, 338, 340
- Tumores. Véase también *Trastornos linfoproliferativos*
  - cambios en la superficie celular, 427
  - formación de imágenes in vivo, 448
  - inmunodiagnóstico de tumores sólidos, 448
  - inmunoterapia, 440
  - mecanismos de escape, 432
  - respuesta inmune contra, 428, 432
- TUNEL, método, 152

U

- Uniones hidrógeno, en los complejos antígeno-anticuerpo, 95, 97*f*

V

- Vacuna(s), 319
  - acelulares, 329
  - actuales, 336
  - adyuvantes, 340
  - específicas de epítopos, 331
  - experimentales, 338
  - factores para el éxito, 323
  - idiotipos como específicos de epítopos, 334
  - liberación controlada, 343
  - microorganismos
    - muertos como, 323
    - vivos atenuados, 324
  - péptido, 332, 333
  - Salk, 323
  - subunidad, 327, 443
- Vacunación, 320
  - célula T, 333
  - consideraciones estratégicas, 322
  - DNA, 329
  - historia, 320
  - e inmunidad de la comunidad, 322
  - y memoria adquirida, 33
  - de la mucosa, 326
  - nasal, 172, 327
  - oral, 326
- Variación antigénica, 302, 302*f*
  - en bacterias, 288
  - en parásitos, 312
- Variantes tum, 428
- Vectores microbianos, en la producción de vacunas, 325
- Vegetales, expresión de genes de anticuerpos en, 322
- Vertebrados, evolución de la respuesta inmune, 275
- Vía
  - del fosfatidilinositol, 186
  - de señalización Notch, 250, 254
- *Vibrio cholerae*, infección por, 296
- Vigilancia inmune, 432
- Viruela, hipersensibilidad mediada por células, 320
- Viruelización, 320
- Virus, 2. Véase también *Infección viral*
  - asociados a los adenovirus (AAV), 160*c*
  - brotación, 306*f*
  - de la coriomeningitis linfocítica (LCMV), 220
  - desplazamiento y variación antigénica, 301, 302*f*

  herpes
    simple, 303, 306
    zoster, 357
  inhibición de la replicación por interferones, 18
  de la inmunodeficiencia humana (HIV), 115
    características, 357, 358*f*
    infección de células por, 357
  de la leucemia de células T humana 1, 434
  oncogénicos, 427, 428
  de tumores mamarios murinos, 114
  vaccinia, producción de vacuna, 321
Vitamina
  A, deficiencia de, 244
  B_{12}, proteína de unión a, 4*f*
  C, deficiencia de, 244
  D, papel regulador, 244
  E, deficiencia de, 244
VLA, subfamilia, 168, 209
von Behring, Emil, 290*f*

W

Western-blot, análisis, 130
Wright, sir Almroth, 290*f*
Wuchereria bancrofti, 385

X

Xenoinjerto, 413
Xenopus, sistema inmune, 275

Y

Yersinia, especies de, 114, 296, 471

Z

ZAP-70, 186

BIBLIOTECA DE LA
FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS
COMPRA Librería Científica
PRECIO
INVENTARIO 21.497
[illegible] 30/08/05
5-9-923

www.el12cirujano.blogspot.com/

Universidad Nacional La Plata
Facultad de Ciencias Médicas
Biblioteca

Roitt

Inmunología

Fundamentos

www.el12cirujano.blogspot.com/

10ª EDICIÓN

Esta obra, con una trayectoria de treinta años desde la aparición de la primera edición, se ha consagrado como el texto de elección para los estudiantes de Inmunología en todo el mundo. Su característica distintiva es la claridad con la que nos introduce en este tema complejo, su fácil lectura, su énfasis en las bases del conocimiento y sus excelentes fotografías e ilustraciones a todo color. La 10ª Edición, totalmente revisada y actualizada centra su interés en:

- Células dendríticas
- Linfocitos intraepiteliales I
- Células T NK y T $\gamma\delta$
- Análisis de las interacciones TCR-péptido-CMH
- Genes por noqueo
- Vías de señalización celular
- Quimiocinas y sus receptores
- Receptores Fcγ
- Muerte celular inducida por activación
- Priones
- Vacunas con DNA
- Comprensión molecular de la inmunodeficiencia
- Correceptor CCR5 para el HIV
- Beneficio terapéutico de los anticuerpos monoclonales anti-IgE en la alergia
- Inducción de tolerancia específica para el antígeno en los trasplantes
- Expresión tímica de autoantígenos específicos de órganos

Posee además un sitio web en **www.roitt.com** que contiene material de autoevaluación, actualizaciones y lecturas adicionales, así como un archivo de imágenes.

Comentarios de las ediciones previas:

"En forma global, **Inmunología**, *Fundamentos* es el mejor de los primeros libros de la especialidad. Claramente deja atrás a otros libros de texto en esta área, por su alcance, organización, claridad y capacidad de transmitir una visión de la inmunología cuidadosamente equilibrada y actualizada. Los estudiantes de medicina que se adentran por primera vez en los misterios de la inmunología, así como los inmunólogos con experiencia, considerarán su lectura como una aventura jubilosa." *The New England Journal of Medicine.*

"Los médicos clínicos de todas las edades y opiniones consideran el libro de Roitt como una línea vital para impedir el ahogo en un océano de jerga inmunológica." *The British Medical Journal.*

ISBN: 950-06-1869-9
84-7903-814-4

9 789500 618694

EDITORIAL MEDICA
panamericana